Zur Kenntnis des Verhaltens von Bakterien im Gewebe der Pflanzen

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät der Universität Leipzig

vorgelegt von

Erich Berthold

aus Bodenbach.

Mit 3 Textfiguren.

Leipzig

Gebrüder Borntraeger

1916

Zur Kenntnis des Verhaltens von Bakterien im Gewebe der Pflanzen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät der Universität Leipzig

vorgelegt von

Erich Berthold

aus Bodenbach.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Mit 3 Textfiguren.

Leipzig

Gebrüder Borntraeger

1916

Angenommen von der III. Sektion auf Grund der Gutachten der Herren Pfeffer und Meisenheimer.

Leipzig, den 25. Januar 1916.

Der Procancellar.
G. Herglotz.

Separatabdruck
aus den Jahrbüchern für wissenschaftliche Botanik, Band LVII, Heft 3.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545814_0066

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Abschnitt I: Ist das Gewebe krautiger Pflanzen und der Holzgewächse normalerweise als keimfrei zu betrachten, und sind in pilzkrankem und zersetztem Holz Bakterien anzutreffen?	5
Einleitende Literaturübersicht	5
Allgemeines über die Methodik	7
A. Versuche mit krautigem Pflanzengewebe	10
B. Versuche mit Splintholz	12
C. Versuche mit Kernholz	14
D. Versuche mit pilzkrankem und zersetztem Holz	15
Allgemeine Betrachtung	22
Abschnitt II: Wie weit vermögen Bakterien und Pilzsporen mit dem von einer Schnittfläche aufgenommenen Wasser in die Holzpflanzen einzudringen?	32
A. Aufsteigen von Bakterien mit dem Transpirationsstrom	34
B. Bakterienaufschwemmung wird unter Druck durch Zweigstücke gepreßt	41
C. Versuche mit Pilzsporen	48
Ergänzende Betrachtung	50
Abschnitt III: Über Lebensdauer und Verhalten von Bakterien im lebenden Pflanzengewebe	54
Einleitende Literaturübersicht	54
A. Lebensdauer von Bakterien in krautigen Pflanzen	57
B. Lebensdauer von Bakterien in lebendem Holz	60
C. Verhalten von Bakterien in Berührung mit isoliertem, lebendem Pflanzengewebe und die Beeinflussung dieses Verhaltens durch Alkali- und Säurebehandlung des Gewebes	62
Allgemeines über die Injektionsversuche	67
Zusammenstellung einiger Ergebnisse	72
Literaturverzeichnis	73

Einleitung.

Fassen wir die Bakterien in ihrem Verhältnis zur höheren Pflanze ins Auge, so ergeben sich äußerst vielseitige Beziehungen. Im Hinblick auf ihre hohe Bedeutung für die Umsetzung des Organischen in der Natur sei zunächst ihres Verhaltens gegenüber dem abgestorbenen pflanzlichen Organismus gedacht. Ist eine Pflanze zugrunde gegangen, so sind in gewissen Phasen der Zersetzung Bakterien hervorragend und notwendig am Werke, die Stoffkomplexe, die im Entwicklungsgang der Pflanze gebildet wurden, wieder in einfache, dem Aufbau neuen Lebens dienende Stoffe zu spalten. Wir sehen sie dabei ihre Tätigkeit unter den verschiedensten Außenbedingungen entfalten; überall dort, wo organische Substanz im Verfall begriffen ist, werden neben anderen heterotrophen Organismen, wie Pilzen, auch Bakterien anzutreffen sein, und wohl alle Stoffe organischer Natur, die Gerüst und Inhalt pflanzlichen Gewebes ausmachen, sind der Organismenwirkung zugänglich. Nicht nur bietet der tote Zellinhalt geeigneten Nährboden, sondern es werden auch Zellwandstoffe von gewissen Bakterien angegriffen; es sei an die Zellulosevergärer erinnert.

Kommt nun den Bakterien eine bedeutungsvolle Rolle bei der Zersetzung abgestorbener Organismen und damit für die Erhaltung des Gleichgewichts des Organischen in der Natur zu, so bietet auch ihr Verhältnis zur lebenden Pflanze ein wechselvolles Bild.

Vorbemerkung: Den Literaturhinweisen im Text sind die betreffenden Nummern des Literaturverzeichnisses beigefügt.

Einerseits ist es ein Kampfverhältnis, wie es uns in den Pflanzenkrankheiten bakterieller Natur entgegentritt, andererseits sind es Lebensgemeinschaften gewisser Mikroorganismen mit höheren Pflanzen, die zur Aufdeckung interessanter Wechselbeziehungen zwischen den Organismen geführt haben. — Die in ihrer Zahl noch ständig wachsenden pflanzlichen Bakteriosen zeigen, daß der pflanzliche Organismus, gleich dem tierischen, verderblicher Bakterienwirkung anheimfallen kann, daß gewisse, mit besonderen Fähigkeiten gerüstete Bakterien im pflanzlichen Gewebe die besten Lebensbedingungen anzutreffen scheinen. Die Lebensgemeinschaften gewisser Bakterien mit höheren Pflanzen — es sei hier nur die Symbiose der Knöllchenbakterien mit den Leguminosen erwähnt — offenbaren die Möglichkeit eines mehr oder minder ausgeglichenen Zusammenlebens. Alle bisher bekannt gewordenen Fälle dieser Symbiosen haben erkennen lassen, daß bei solchem „Vorkommen" von Bakterien im Gewebe zugleich sehr verwickelte Beziehungen zwischen Mikroorganismen und dem Lebensgetriebe der Pflanze zu bestehen pflegen (vgl. Vouk, Lebensgemeinschaften, Lit. 41).

Als ein bedeutungsvolles Moment im Verhältnis der Bakterien zur lebenden Pflanze kann die aus dem Studium pflanzlicher Bakteriosen hervorgegangene Tatsache betrachtet werden, daß neben der von Wunden ausgehenden Infektion in vielen Fällen auch eine Besiedelung des Gewebes derart erfolgt, daß die Bakterien durch die natürlichen Öffnungen des Pflanzenkörpers eindringen. Die Möglichkeit dieses Infektionsmodus mußte, als nähere Untersuchungen noch nicht vorlagen und das aggressive Verhalten von Bakterien gegenüber der lebenden Pflanzenzelle nur für vereinzelte Fälle bekannt war, zunächst begründetem Zweifel vornehmlich im Hinblick darauf begegnen, daß den Bakterien in den Atemhöhlen und Interzellularen nur äußerst reduzierte Lebensbedingungen geboten zu sein schienen (vgl. A. Fischer, 13, S. 277).

Vielen phytopathogenen Bakterien muß aber heute die Fähigkeit zuerkannt werden, ihren Weg durch Spaltöffnungen, Wasserspalten, Lenticellen in das Pflanzeninnere zu nehmen (Smith, 34, S. 54 ff.), und es erhebt sich hier die Frage, ob normalerweise auch harmlose Bakterien in die Pflanze einwandern, und im engen Anschluß hieran, ob das Innere der Pflanze frei von Bakterien ist. Die Außenflächen der Pflanze stehen ja jederzeit und in allen Teilen mit Bakterien in Berührung; die Wurzel ist von den zahllosen Bodenbakterien umgeben, auf den oberirdischen Teilen können

sich die durch Luftströmung oder Wasser herbeigeführten Bakterien ansiedeln, und wir müssen nach Untersuchungen von Burri (5) und Düggeli (10) annehmen, daß auf der Oberfläche der Pflanzen sich eine Bakterienvegetation abspielt, die im wesentlichen ihren Ursprung darin nimmt, daß gewisse epiphytische Bakterien von der Samenschale aus die Epidermis des Keimlings besiedeln und sich dann dauernd auf der Pflanze aufhalten. Da der Pflanzenkörper nun gegen die Außenwelt nicht absolut verschlossen ist, sondern das innere Gewebe durch Spaltöffnungen und Lenticellen in direkter Verbindung mit der Atmosphäre steht, so scheinen einem Einwandern von Bakterien Hindernisse mechanischer Natur nicht entgegenzustehen. Eine vielseitig gestützte Annahme besagt, daß normalerweise das Innere der Pflanze steril ist. Es ist dabei noch nicht entschieden, ob die natürlichen Öffnungen und die Interzellularräume für Bakterien im allgemeinen unwegsam sein werden oder ob, wenn Eindringen erfolgt, die Bakterien in den Hohlräumen des Gewebes vielleicht bald zugrunde gehen. Die parasitisch lebenden Bakterien nehmen nun insofern eine Sonderstellung ein, als sie nach dem Einwandern nicht auf die Interzellularräume beschränkt bleiben, sondern durch Zerstörung des Gewebes sich weitere Bedingungen zur Vermehrung und Ausbreitung schaffen, eine Fähigkeit, die den saprophytischen Bakterien im allgemeinen abgeht; doch gelangen die auf der Pflanzenoberfläche lebenden Bakterien trotz anscheinend sehr mangelhaften Substrates zu erstaunlicher Vermehrung, wie wir aus den von Burri und Düggeli konstatierten hohen Keimzahlen schließen müssen. Es wird die Existenzmöglichkeit von Bakterien auch in den Hohlräumen der Pflanze nicht von vornherein als ausgeschlossen betrachtet werden können.

Kann das lebende Gewebe für die Ernährung von Bakterien, die zum Angriff auf die Zelle nicht befähigt sind, nicht in Betracht kommen, so finden sich doch in den Pflanzen auch ausgedehnte Partien toter Zellen vor, wie im abgestorbenen Holz und im Mark, und es ergeben sich hier Fragen der Art, ob z. B. das Splint- und Kernholz — mit dem System der Leitbahnen als ausgedehnten Hohlräumen — völlig sterile Gewebekomplexe darstellen, und ob der aufsteigende Saftstrom eine keimfreie Flüssigkeit ist. Die Holzgewächse sind in dieser Hinsicht noch nicht untersucht worden, und es erscheint eine nähere Prüfung zugleich als Ergänzung der für die krautigen Gewächse bisher gemachten Annahme erforderlich.

Ferner ist noch nicht festgestellt worden, ob und wieweit Bakterien mit dem aufsteigenden Wasser in den Gefäßen verschleppt werden können, wenn ihnen der Zugang durch eine Schnittfläche eröffnet ist.

Wenn wir weiter beobachten, wie selten ein Baum einen unverletzten Holzkörper aufweist, wie durch oft geringfügige Verletzungen holzzerstörenden Pilzen das Vordingen in das Holz ermöglicht wird, so drängt sich die Frage auf, ob Bakterien von Wunden aus das Holz besiedeln, ob sie mit dem Mycel der Pilze vordringen und den Pilz bei seinem Zerstörungswerk begleiten.

Offenbar liegen hier einige Probleme vor, die einer experimentellen Untersuchung noch entbehren.

War für die vorliegende Arbeit die Aufgabe gestellt, zu ermitteln, ob sich in Splint oder Kernholz von Holzpflanzen Bakterien oder Pilze vorfinden, und wie weit Keime dieser Organismen mit dem von einer Schnittfläche aufgenommenen Wasser eindringen, so erschienen zur Ergänzung und Umkleidung dieser Fragen einige weitere Untersuchungen angebracht. Diese erstreckten sich zunächst auf krautige Pflanzen, einerseits mit dem Ziele, die Annahme von der Keimfreiheit des Gewebes einer sorgfältigen Nachprüfung zu unterziehen, andererseits um für weitere Untersuchungen die nötige Übung und Sicherheit zu erlangen. Ferner erschien es im Zusammenhang mit beiden Fragen von Interesse, zu beobachten, inwieweit das lebende Gewebe — auch das der Holzgewächse — überhaupt als Aufenthaltsort für Bakterien in Betracht kommen kann, und wie letztere sich daher bei künstlicher Einführung in das Gewebe verhalten, ob sie ausreichende Lebensbedingungen vorfinden, sich lange lebend erhalten oder, vielleicht infolge Einwirkung seitens der Pflanze, bald zugrunde gehen.

Nach den hiermit angedeuteten Richtungslinien gliedert sich die folgende Darstellung in 3 Abschnitte: Im 1. Abschnitt sind Versuche mitgeteilt, in denen krautiges Pflanzengewebe sowie Splint- und Kernholz auf ihre Sterilität hin untersucht werden; es wird im speziellen der Frage näher getreten, ob in pilzkrankem, zersetztem Holz sich Bakterien vorfinden. Durch die Versuche des 2. Abschnittes ist ermittelt worden, wie weit Bakterien und Pilzsporen mit dem von einer Schnittfläche aufgenommenen Wasser in Zweige von Holzpflanzen eindringen. In den Versuchen des 3. Abschnittes wurden verschiedene Bakterien in das Gewebe von Kraut- und Holzpflanzen injiziert und ihre Lebensdauer festgestellt. Nebenher laufen einige Versuche, in denen Bakterien mit isoliertem,

lebendem Pflanzengewebe zusammengebracht werden und ihr Verhalten sowohl dem lebenden wie dem mit Alkali oder mit Säure behandelten Gewebe gegenüber beobachtet wird. —

Über die in Frage kommende Literatur wird eingangs der Abschnitte kurz berichtet, und eine Übersicht über die Ergebnisse aus eigenen Versuchen ist jedem Abschnitt nachgestellt.

I.

Ist das Gewebe krautiger Pflanzen und der Holzgewächse normalerweise als keimfrei zu betrachten, und sind in pilzkrankem und zersetztem Holz Bakterien anzutreffen?

Einleitende Literaturübersicht.

Die zahlreichen, bisher angestellten Untersuchungen über das Vorkommen von Bakterien im normalen Pflanzengewebe erscheinen durch verschiedenartige Probleme angeregt. So wird in ihnen neben der Hauptfrage die Möglichkeit des Eindringens von Bakterien in die Pflanzen erörtert, wobei oft medizinisch-hygienische Gesichtspunkte obwalten; einen wesentlichen Teil dieser Literatur nehmen ferner Untersuchungen von Pflanzensamen ein, vielfach vorgenommen im Hinblick auf Fragen nach der Beteiligung von Bakterien an den Keimungsvorgängen. — Im allgemeinen ist festgestellt worden, daß gesundes Pflanzengewebe keine Bakterien beherbergt, jedoch ist dabei im wesentlichen nur das Gewebe krautiger Pflanzen berücksichtigt worden.

Einige Arbeiten aus dieser Literatur sollen kurz überblickt werden [1]).

Die Annahme, daß der gesunde pflanzliche Organismus den Bakterien verschlossen und sein Inneres als frei von Mikroorganismen zu betrachten ist, geht auf Pasteur (1876) zurück. Er stellte fest (30, S. 55), daß der Saft der Weinbeere, unter aseptischen Kautelen in Kulturflüssigkeit gebracht, keine Mikrobenentwicklung verursacht, und daß die Erreger der Gärung von der Außenfläche der Beeren stammen.

1) Vollständiges, chronologisch geordnetes Literaturreferat findet sich bei Smith, 34, S. 23 ff.

Einige weitere Arbeiten verzeichnen im Anschluß an Pasteur Ergebnisse im gleichen Sinne: so die Untersuchungen von Laurent (25) und von Fernbach (12), die sich auf Knollen, Keimpflanzen, krautiges Gewebe oberirdischer Pflanzenteile erstrecken. Es liegen auch Untersuchungen vor, deren Ergebnis auf das Vorkommen von Bakterien im gesunden Gewebe zu schließen veranlaßten; sie haben aber meist einer genauen Nachprüfung nicht Stand gehalten. Glaubte z. B. Galippe (15) nachgewiesen zu haben, daß die zahlreichen Dungbakterien des Bodens in Gemüsepflanzen übergehen könnten — seine Kulturen mit Gewebestücken aus Kartoffeln, Rüben, Karotten usw. waren in überwiegender Anzahl infiziert —, so führten später Untersuchungen von Fernbach (12) zu dem Resultat, daß von 555 Kulturen mit Gewebestücken aus Pflanzen der gleichen Art, wie sie Galippe benutzt hatte, nur 6,3 % infiziert waren. Damit war die gewagte Annahme Galippes widerlegt. Die zu einem geringen Prozentsatz auftretenden getrübten Kulturen werden mit Recht der oft unvermeidlichen, während Vornahme der Versuche eingetretenen Infektion zugeschrieben. — Smith (34, S. 26) gibt an, einige Male Bakterien in fleischigen Wurzeln vorgefunden zu haben. Die Wurzeln waren nicht frisch der Erde entnommen, aber sonst als normal anzusehen gewesen. Er meint, daß wahrscheinlich das Gefäßsystem der Wurzeln häufig Bakterien enthalte. Im Anschluß hieran kann ein Versuch von Laurent (24) erwähnt werden. Unter aseptischen Außenbedingungen überführte er den Saft, der aus den Stümpfen von 11 Weinstöcken tropfte, in Gefäße mit sterilisierter Nährbouillon, und nur eines der 11 Gläser zeigte darauf Bakterienentwicklung. — Russell (33) fand, daß Bakterien im gesunden Pflanzengewebe nicht vorhanden sind; dasselbe Resultat erzielte Zinsser (44), der außerdem nachweist, daß die oberirdischen Teile und auch die Samen der mit Knöllchen behafteten Leguminosen frei von knöllchenerzeugenden Bakterien sind.

In enger Beziehung zur Frage nach dem Vorkommen von Bakterien in gesunden Pflanzen stehen auch die Untersuchungen, aus denen sich ergeben hat, daß Keimung und Entwicklung der Pflanze ohne Mitwirken von Bakterien vor sich gehen können; nach Chamberland (7) sind Erbsen, direkt der Hülse entnommen, frei von Bakterien und keimen in sterilem Medium aus, und Kochs (20) konnte die Frage: Gibt es ein Zellenleben ohne Mikroorganismen? dahin beantworten, daß die Pflanze ohne Gegenwart von Bakterien zu existieren vermag. Es gelang ihm, aus äußerlich

sterilisierten Samen normal entwickelte Pflanzen in keimfreiem Raume aufzuziehen. Diese Pflanzen zeigten sich außerdem sehr widerstandsfähig gegen Verfall.

Es mögen hier noch einige Beobachtungen aus neuerer Zeit angeführt werden, die, wenn auch im Zusammenhang mit anderen Problemen gewonnen, doch geeignet erscheinen, unsere Frage von neuem aufzurollen. So gibt Peklo (31, S. 484) an, in Schnitten von normalen, unbeschädigten Zuckerrüben viele Bakterien, anscheinend Saprophyten, nachgewiesen zu haben, die sich in den lebenden Zellen im Innern der Wurzel aufhalten sollen. Ferner erhielt Störmer (35) auf Nähragarplatten, die mit Spänen aus dem Holz von Kirschbäumen belegt waren, in vielen Fällen Bakterienvegetation. Nach Störmer soll überhaupt jede von ihm untersuchte Pflanze mit einer „endogenen Bakterienflora" besiedelt gewesen sein (35, S. 138). —

Im folgenden habe ich nun krautige Gewächse und darauf Splint- und Kernholz einiger Holzgewächse einer sorgfältigen Prüfung daraufhin unterzogen, ob in ihnen Bakterien oder andere Mikroorganismen normalerweise anzutreffen sind. Hieran anschließend, erschien es im Hinblick auf die allgemeine Verbreitung von Erkrankungen des Holzes von Interesse, zu ermitteln, ob sich in pilzkranken Holzgewächsen Bakterien vorfinden. Wie in den meisten der eben besprochenen Arbeiten wird auch hier das Gewebe auf die Weise untersucht, daß einzelne Partikel aus dem Innern eines Pflanzenteiles unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln in ein für die Entwicklung von Bakterien und Pilzen geeignetes Nährsubstrat überführt werden.

Eine nähere Charakterisierung etwa vorzufindender Bakterien oder Pilze erschien für das Prinzipielle unserer Frage nicht von Bedeutung; es wurde von vornherein darauf verzichtet. —

Allgemeines über die Methodik.

Zur Innehaltung der sterilen Außenbedingungen bei dem Isolieren von Gewebepartikeln ist auf peinlich sauberes Arbeiten größte Sorgfalt zu verwenden. Vorversuche zeigen, daß die Resultate wesentlich von der aufgewandten Mühe und erreichten Übung abhängig sind, und so müssen die ersten Versuche trotz Beachtung aller Fehlerquellen, die hier außerordentlich störend auftreten, als Übungsversuche betrachtet werden und sind bis zu einer gewissen

Sicherheit im Umgang mit den verschiedenen Objekten fortzusetzen. Daß dies nicht immer genügend berücksichtigt worden ist, lassen die anscheinend zu früh gefällten Urteile in einigen Arbeiten der eben zitierten Literatur vermuten; es wäre verfehlt, aus einem Versuch, der etwa zu 50 % infizierte Kulturen liefert, ein bindendes Resultat nach dieser oder jener Richtung hin konstruieren zu wollen, und selbstverständlich könnte auf ein Vorkommen von Bakterien im Gewebe erst dann mit Sicherheit geschlossen werden, wenn ein gewisser, vielleicht überwiegender Prozentsatz infizierter Kulturen bei wiederholten Bemühungen wiederkehrt.

Handelte es sich um dicke, fleischige Pflanzenteile, wie etwa um eine Mohrrübe, so verfuhr ich folgendermaßen: nach sorgfältiger Reinigung des Objektes mit Wasser und Seife und Abspülen in Sublimat $^1/_{1000}$ und in sterilisiertem Wasser wurden im sogenannten Hansenschen Kasten[1]) mit sterilen Messern die äußeren Schichten der Rübe entfernt, darauf wurde unter Verwendung weiterer steriler Messer aus dem Gewebe eine Säule geschnitten, von der dann mit steriler Pinzette einzelne Stückchen abgebrochen und in Erlenmeyerkölbchen, die sterilisiertes Leitungswasser bezw. Nährbouillon enthielten, gebracht werden konnten. Die besten Resultate wurden erreicht, wenn es gelang, die Pflanzenteile zu zerbrechen und von der Bruchfläche kleine Gewebestücken abzuspalten. Diese Methode erwies sich auch für die später verwandten Wurzeln, Rhizome und Stengel als vorteilhaft; beim Zerschneiden der Objekte besteht immer die Gefahr, daß Oberflächenbakterien, die sich trotz sorgfältiger Desinfizierung nicht vollständig entfernen lassen, in das innere Gewebe verschleppt werden. Auf Einzelerfahrungen wird an betreffender Stelle hinzuweisen sein.

Die Skalpelle und Pinzetten wurden vorher in einem kupfernen Kasten bei 160° C trockener Hitze sterilisiert; reichten die Instrumente während eines Versuches nicht aus, so konnten sie in der Flamme eines bereitstehenden Bunsenbrenners aufs neue sterilisiet

1) Ein allseitig geschlossener Kasten mit Glaswänden, in den man nach Einbringen der zum Versuch nötigen Kulturgefäße und Instrumente Wasserdampf einströmen läßt. Der an den Wänden sich niederschlagende Wasserdampf führt die Bakterien und Pilzsporen der Luft mit sich. Der somit keimfrei gemachte Luftraum ist zum Einführen der Hände nur durch zwei kleine, verschließbare Fenster zugänglich. Während des Arbeitens bleibt natürlich die Keimfreiheit der Luft nicht gewahrt, doch ist die Gefahr der Luftinfektion bei vorsichtigem Arbeiten und kurzer Dauer des Versuches nicht bedeutend.

werden. Mehr als 6—10 Kulturen für einen Versuch herzustellen, empfahl sich nicht, da naturgemäß die Gefahr einer von außen kommenden Infektion mit der Dauer des Versuches steigt. Selbstverständlich wurde nur mit gründlich gereinigten und in Sublimat abgespülten Händen gearbeitet.

Für die Versuche 1—4 kam sterilisiertes Leitungswasser als Kulturflüssigkeit zur Anwendung; waren Bakterien im Gewebe vorhanden, so fanden sie in den Substanzen, die aus den Gewebestücken diffundieren, genügend Nährstoffe vor, um zu äußerlich sichtbarer Entwicklung — Trübung des Kolbeninhaltes — zu gelangen. Die Nährbouillon für alle weiteren Versuche hatte folgende Zusammensetzung:

Destilliertes Wasser	100,0
Rohrzucker	1,0
Pepton Witte	0,5
Liebigs Fleischextrakt . . .	0,25

Diese schwach saure Bouillon wurde mit Soda neutralisiert und auf die übliche Weise im Dampfraum sterilisiert. Der besonders auch in den Abschnitten II und III dieser Arbeit verwandte feste Nährboden bestand aus folgenden Substanzen:

Destilliertes Wasser . . .	500 ccm
Pepton Witte	6 g
Liebigs Fleischextrakt . .	4 „
Agar-Agar	8 „
Rohrzucker	5 „

Auch dieser Nährboden wurde bis zur neutralen Reaktion gegen Lackmus mit Soda versetzt. Ich überzeugte mich, daß beide Nährsubstrate sowohl für die Entwicklung von Bakterien als auch von Pilzen geeignet waren.

Für die Kulturen mit flüssigem Nährsubstrat erwiesen sich zylindrische Gläschen von 10 cm Höhe und 2,5 cm Durchmesser wegen des glatten und schnellen Einbringens der Gewebestückchen bezw. Holzspäne als vorteilhaft. Sie wurden zu $^1/_3$ ihrer Höhe mit Nährbouillon gefüllt und zum besonderen Schutz in ein Glasgefäß mit Deckel gestellt. In allen Fällen fanden die Kulturen im Wärmezimmer bei ca. 25° C Aufstellung und wurden 8—12 Tage lang beobachtet.

Um sicher zu sein, daß die Sterilität der Kulturen nicht etwa auf der Anwesenheit von Spuren der Sublimatlösung oder anderer,

zur äußerlichen Desinfizierung der Pflanzenteile verwendeter Antiseptika beruhte — es war denkbar, daß Sublimatspuren oder dergl. durch äußerlich unauffällige Verletzungen in das innere Gewebe eingedrungen sein konnten —, wurden am Ende der Versuche einige Gläschen geöffnet und so der Luftinfektion zugänglich gemacht, oder sie wurden mit Spuren einer Bakterienkultur beimpft. Die dann in allen Fällen eintretende Trübung beseitigte Bedenken dieser Art. Auch stellte ich bei jedem Versuch einige Kontrollkulturen so her, daß ich einige Gewebepartikel unter Vernachlässigung aseptischer Kautelen in Nährbouillon überführte, um für jeden Fall sicher zu sein, daß Bakterien bezw. Pilze sich im Nährsubstrat entwickeln konnten.

Die Resultate dieser Beobachtungen sind, wo es angängig war, zu Tabellen vereint worden; bei späteren Versuchen mit Holzgewächsen machten sich Einzeldarstellungen nötig. —

A. Versuche mit krautigem Pflanzengewebe.

Es gelangten nur äußerlich einwandfreie Exemplare von Knollen, Wurzeln, Stengeln usw. zur Verwendung. Ich begann mit knolligen Pflanzenteilen deshalb, weil hier die Möglichkeit besteht, durch sukzessives Entfernen mehrerer Außenschichten oder durch Herstellen einer Bruchfläche eine Infektion seitens der Oberfläche gänzlich zu vermeiden. Trotzdem verlief eine Reihe von Versuchen mit negativem Erfolg; schließlich gelang es aber, alle Kulturen steril zu bekommen. Nur dieser letzte Erfolg sei hier verzeichnet:

Versuchs-Nr.	Versuchsobjekte	Zahl der		Steril
		Versuche	Kulturen	
1	Möhre	4	24	100 %
2	Kartoffel	2	12	„
3	Kohlrabi	4	24	„
4	Weiße Rübe	3	18	„

In dem anschließenden Versuch steigerte sich die Schwierigkeit, Gewebepartikel steril zu isolieren, mit der abnehmenden Dicke der Stengel. Im besonderen zeigten einige Vorversuche mit Keimpflanzen, daß eine Desinfektion der Außenfläche der Pflanzenteile ohne Schädigung des Gewebes nicht möglich war. Selbst durch

Abreiben mit Alkohol und Äther und Abflammen über dem Bunsenbrenner konnten anscheinend nicht alle Bakterien von den Stengeln entfernt werden. Es mußte daher die Epidermis abgeschält werden.

Die Isolierung von Blattgewebe ist natürlich nur bei Sukkulenten, wie *Echeveria*, möglich. Die Gewebepartikel aus dem Mark wurden so gewonnen, daß ich nach Aufspalten der Zweigstücke dem Markzylinder mit steriler Pinzette einzelne Stückchen entnahm.

Die folgende Tabelle gibt Zahl und Ergebnis der überhaupt mit den angeführten Pflanzen vorgenommenen Versuche wieder; Vorversuche wurden hier im allgemeinen nicht angestellt:

Versuchs-Nr.	Versuchsobjekt	Pflanzenteil	Zahl der Kulturen	Infiziert
5	Apfel	Fruchtfleisch	11	0
6	*Pelargonium peltatum*	Stengel	12	0
7	*Bryophyllum calycinum*	„	10	0
8	*Phaseolus multiflorus*	„	12	2
9	„ „	Epikotyl	10	2
10	*Lupinus albus*	Hypokotyl	12	1
11	*Ricinus communis*	„	9	1
12	*Aesculus hippocastanum*	Epikotyl	12	2
13	*Echeveria scaphiphylla*	Blätter	12	2
14	*Sambucus nigra*	Mark (tot)	12	1
15	*Catalpa ovata*	„ „	10	0
			122	11

Man sieht aus dem Ergebnis, daß es namentlich bei Verwendung starker Stengel, wie sie bei *Bryophyllum* und *Pelargonium* in Betracht kommen, sehr gut möglich ist, ein eindeutiges Resultat zu erzielen. Die Bakterien, die in den Versuchen 8—13 eine geringe Zahl von Kulturen infizierten, stammten sicher von der Oberfläche der Pflanzenteile; es wachsen hier die technischen Schwierigkeiten beträchtlich, da die zarten Organe für einen Versuch nur wenig Gewebepartikel von einem epidermisfreien und steril isolierten Gewebekomplex liefern und man höchstens 3—4 Kulturen auf einmal herstellen kann.

Größte Sorgfalt erforderten auch die folgenden Versuche mit unterirdischen Pflanzenorganen; gelangte ein oberflächlich gelegenes Gewebefragment mit in die Nährflüssigkeit, so trübte sich meist die Kultur nach 1—2 Tagen.

16) Gewebe aus Knollen von *Dahlia variabilis*, die den Winter über gelagert hatten, 3 Versuche:

a) von 6 Kulturen blieben 3 steril,
b) „ 6 „ „ 5 „ ,
c) „ 8 „ „ 7 „ .

17) Gewebe aus frisch ausgegrabenen, unterirdischen Stengelteilen von *Helianthus tuberosus*, 3 Versuche:

a) von 6 Kulturen blieben 4 steril,
b) „ 6 „ „ 4 „ ,
c) „ 5 „ „ 5 „ .

18) Gewebe aus fleischigen Wurzeln von *Lappa officinalis*, frisch ausgegraben, 3 Versuche:

a) von 6 Kulturen blieben 4 steril,
b) „ 8 „ „ 7 „ ,
c) „ 6 „ „ 6 „ .

19) Gewebe aus dem frisch der Erde entnommenen Rhizom von *Iris florentina*, 2 Versuche:

a) von 8 Kulturen blieben 5 steril,
b) „ 6 „ „ 6 „ .

20) Gewebe aus einer starken Wurzel von *Sambucus nigra*, 2 Versuche:

a) von 5 Kulturen blieben 4 steril,
b) „ 6 „ „ 4 „ .

Es wurde nicht in allen Fällen das erwünschte Ziel erreicht; doch dürfte zu bezweifeln sein, ob die hier auftretenden Bakterien aus dem Innern des Gewebes stammten.

Einige Forscher haben zwischen frisch der Erde entnommenen und gelagerten Pflanzen Unterschiede bezüglich ihres Verhaltens gegenüber dem Eindringen von Bakterien festgestellt. Darauf wird im allgemeinen Teil einzugehen sein.

B. Versuche mit Splintholz.

Zu den folgenden Versuchen wurden gesunde, mehrjährige Zweige der in nachstehender Tabelle verzeichneten Holzgewächse verwendet. Ich machte die Erfahrung, daß hier eine Infektion der Kulturen seitens der den Zweigen äußerlich anhaftenden Mikroorganismen viel geringer war, als z. B. bei krautigen Stengeln. Es

genügte daher, die Zweige durch Abbürsten mit Wasser und Seife von den gröbsten Unreinigkeiten zu befreien und darauf das Rindengewebe sorgfältig abzuschälen, wobei vermieden wurde, daß ein und dasselbe Messer mit Rinde und Holz zugleich in Berührung kam. Vom Holzkörper spaltete ich dann einzelne Späne ab und überführte sie zu je 2—3 in Gläschen mit steriler Nährbouillon.

Selbstverständlich wurde auch hier nicht versäumt, Kontrollkulturen herzustellen und nach der durchschnittlichen Beobachtungszeit von 10 Tagen von einigen Gläschen den Wattebausch zu entfernen.

Versuchs-Nr.	Versuchsobjekt	Zahl der Kulturen	Infiziert
1	*Populus nigra*	18	2
2	*Quercus pedunculata*	12	0
3	*Salix caprea*	12	0
4	„ *alba*	12	2
5	*Fagus silvatica*	12	0
6	*Aesculus hippocastanum*	8	1
7	*Taxus baccata*	10	1

In allen weiteren Versuchen wurden zum Teil die Holzspäne auch auf Platten mit Nähragar überführt.

Ausführlicheres Beispiel für *Prunus avium:*

8) Die Späne entstammten dem Splint eines gesunden, frisch vom Baume geschnittenen Astes. Es wurden 8 Gläser, Nährbouillon enthaltend, mit je 2 Spänen, und 4 Agarplatten mit je 1 Span beschickt.

Nach 1 Tag: 7 Kulturen klar, 1 schwach getrübt,
„ 6 Tagen: 7 „ „ , 1 stark „ .

Um etwa in den Kulturen vorhandenen Bakterien, die vielleicht hier nicht zu äußerlich erkennbarer Entwicklung gelangten, andere Entwicklungsbedingungen zu bieten, vermischte ich einige Tropfen Flüssigkeit aus den klaren Kulturen mit Nährgelatine und goß 2 Platten, dazu 1 Kontrollplatte mit getrübter Flüssigkeit.

Nach 10 Tagen: Die klaren Kulturen unverändert, die Gelatineplatten mit Ausnahme der (verflüssigten) Kontrollplatte steril, ebenso die 4 Agarplatten.

9) Ein zweiter Versuch mit Splintholz aus demselben Ast von *Prunus avium* ergab, daß von 7 Kulturen während 10 Tagen 6 steril blieben, 1 Kultur war mit Bakterien infiziert.

Die Resultate der Versuche lassen erkennen, daß normales Splintholz als keimfrei betrachtet werden kann.

C. Versuche mit Kernholz.

1) Von einem starken, gesunden Aststück von *Prunus avium* mit rotbraun gefärbtem Kernholz wurden die Splintlagen abgehobelt, darauf die Kernholzsäule über dem Bunsenbrenner abgeflammt, mit sterilem Skalpell eine Spaltfläche hergestellt, von dieser mit sterilen Messern einzelne Späne abgeschnitten und in Nährbouillon gebracht, und zwar wurden 6 Gläser mit je 2 Spänen beschickt.

Nach 3 Tagen: Die Kulturflüssigkeit hat sich dunkelbraun gefärbt, ist aber in allen Gläsern klar geblieben.

Nach 9 Tagen: 5 Kulturen vollkommen klar, 1 schwach getrübt. Flüssigkeit aus 3 klaren Kulturen mit Nährgelatine vermischt und (3) Platten gegossen.

Nach 15 Tagen: Die klaren Kulturen sind steril geblieben, ebenso die Gelatineplatten. Die Trübung der einen Kultur ist, wie die mikroskopische Untersuchung des schweren, beim Schütteln zopfartig aufsteigenden Bodensatzes ergibt, durch hefeähnliche Organismen verursacht.

2) Dasselbe Aststück wurde zu einem weiteren Versuche verwendet; der Inhalt von 8 Gläschen mit je 2 Spänen aus dem Kernholz blieb während 10 Tagen steril; 2 Kontrollkulturen, mit Spänen ohne Vorsichtsmaßregeln beschickt, waren nach 2 Tagen vollständig getrübt.

3) Gesundes Kernholz aus einem 7,5 cm starken Ast von *Prunus avium*, der von Juni bis Dezember 1914 auf einem Holzstoß im Freien gelagert hatte, wurde auf die gleiche Weise untersucht. Aus dem 80 cm langen Aststück gelangte ein mittleres Stück von 20 cm Länge zur Verwendung. Von der isolierten Kernholzsäule wurden an drei verschiedenen Stellen Späne abgeschnitten und in 6 Gläschen mit Nährbouillon verteilt. Alle Kulturen blieben steril (1 Monat), ebenso 3 Agarplatten mit je 2 Spänen belegt.

3 Gelatineplatten, unter Beimischen von Flüssigkeit aus klaren Kulturen hergestellt, waren nach 7 Tagen noch steril.

4) Ein zweiter Versuch, mit demselben Aststück, aber mit Spänen von neuen Schnittflächen, ergab, daß von 8 Kulturen 2 infiziert waren (Bakterien und *Aspergillus niger*), die übrigen aber steril blieben. —

Die Versuche mit Kernholz haben 31 Kulturen gefördert, von denen 3 infiziert waren. Man kann wohl annehmen, daß die Verunreinigung letzterer in Infektionen seitens der Luft oder seitens der Instrumente ihre Ursache hatte. Von den Erfahrungen mit dem Holz der Kirsche aus wird verallgemeinert werden können, daß unter normalen Verhältnissen das Kernholz unserer Holzgewächse einen völlig sterilen Gewebekomplex darstellt.

Wie liegen nun die Verhältnisse bei solchem Holz, das irgendwie anormale Erscheinungen aufweist, besonders aber in den Fällen, wo Pilze das Holz durchwuchern? Wir werden namentlich ältere Bäume bei näherem Betrachten selten gänzlich frei von Pilzschäden antreffen. Halten sich mit dem Pilzmycel zugleich auch Bakterien im Holz auf?

Bei Erkrankungen krautiger Gewächse durch Pilze oder Bakterien sind häufig Vertreter beider Organismengruppen im befallenen Gewebe vorgefunden worden, zum mindesten scheinen oft Bakterien das Zerstörungswerk des Pilzes fortzusetzen. Namentlich bei den verschiedenen Erkrankungen der Kartoffeln hat das gleichzeitige Vorkommen von Bakterien und Pilzen das Erkennen des primären Erregers erschwert. Auch sind Fadenpilze als Begleiter von Bakteriosen angetroffen worden (vgl. z. B. Sorauer, 36, S. 35 und S. 468, sowie Potter, 32, S. 632).

Um einen Einblick zu gewinnen, ob bei Schädigungen des Holzes, besonders bei Pilzerkrankungen, sich Bakterien im Holz vorfinden, ob sie das vordringende Mycel begleiten oder nachträglich das zersetzte Holz besiedeln, untersuchte ich die im folgenden verzeichneten Fälle.

D. Versuche mit pilzkrankem und zersetztem Holz.

1) *Quercus pedunculata.* Ein frisch vom Baume geschnittener Ast von 6,5 cm mittlerem Durchmesser wies einen tiefen Längsriß auf, der sich bis in den Holzkörper erstreckte. Der Splint war ober- und unterhalb der Rißstelle gelb bis braun gefärbt. Die

verfärbten Partien zogen sich auf lange Strecken im Holz hin und waren jedenfalls eine Folge der starken Verwundung. Das Kernholz zeigte durchgängig normale, braune Färbung. Der Holzzylinder wurde gespalten, und unter aseptischen Kautelen entnahm ich sowohl dem normalen Splint, als auch dessen verfärbten Teilen eine Anzahl Späne und überführte sie in Nährbouillon und auf Agarplatten. Das verfärbte Holz war deutlich weicher als das normale Splintholz. Von einer Pilzerkrankung war äußerlich nichts wahrzunehmen.

Ergebnis:

a) 3 Gläschen und 3 Platten mit je 2 Spänen aus dem normalen Splint blieben steril.

b) 6 Gläschen und 3 Platten mit je 2 Spänen aus dem verfärbten Splintholz: Bald nach Einbringen der Späne in die Nährlösung zeigte sich eine leichte, flockige Trübung, und im Umkreis der Späne auf dem Agar entstand ein gelblicher Saum.

Da diese Trübung ebenso wie der Saum auf den Platten weiterhin nicht zunahm und wiederholtes Abimpfen keine Bakterienentwicklung zur Folge hatte, so handelte es sich hier wahrscheinlich um eine Fällung, verursacht durch das Zusammentreffen des Tannins des Holzes mit dem Pepton der Nährlösung; wie ich mich durch einen Versuch überzeugte, ergibt das Zusammenbringen von stark verdünnten Lösungen beider Substanzen einen weißgelben Niederschlag. — Bakterien- oder Pilzentwicklung wurde in keiner Kultur wahrgenommen (12 Tage).

2) *Ulmus campestris.*

a) Der 1,5 m hohe Stumpf eines Ulmenstammes zeigte, während seine untere Hälfte gesund und im Besitz glatter, grüner Rinde war, in seiner oberen Hälfte die runzelige Rinde mit zahlreichen Fruchtkörpern von *Nectria cinnabarina* besetzt. Die mikroskopische Untersuchung des erkrankten Holzes ergab die Anwesenheit zahlreicher, verschieden starker Pilzhyphen vornehmlich in den Gefäßen. Aus einem handlichen Stammstück wurde eine kantige Säule so herausgeschnitten, daß sie sowohl gesundes wie auch krankes Holz enthielt; letzteres trat durch gelbbraune Verfärbung besonders hervor. Nach flüchtigem Abflammen über dem Bunsenbrenner entnahm ich im Hausenschen Kasten unter ständigem Wechsel der Messer dem Holz von den Kanten aus eine Anzahl Späne und

verteilte sie in Nährbouillon. Ich gewann 7 Kulturen mit je zwei Spänen und stellte einige Kontrollkulturen her mit Spänen, die ohne Vorsichtsmaßregeln in die Nährlösung gebracht wurden.

Nach 2 Tagen sproßte aus den Spänen ein feiner, dichter Mycelrasen hervor, am lebhaftesten aus den Spänen, die der Grenze von gesundem und krankem Holz entstammten. Die Flüssigkeit war völlig klar und blieb es auch während der Beobachtungsdauer von 10 Tagen; das Mycel nahm täglich zu. Die Kontrollkulturen zeigten schon am 3. Tage lebhafte Bakterienentwicklung, während Pilzmycel nicht auftrat; es war jedenfalls durch die üppige Bakterienvegetation unterdrückt worden.

Die klare Flüssigkeit der mycelhaltigen Kulturen wurde zu einem Plattenguß mit Nährgelatine verwendet. Die Platten (6) blieben steril.

Um den hier möglichen Einwand zu entkräften, daß die Nährflüssigkeit durch das Mycelwachstum bakterienfeindliche Eigenschaften angenommen habe, die etwa im Holz vorhandene Bakterien unterdrücken könnten, wurden einige Kulturen — die Flüssigkeit hatte ihre neutrale Reaktion gegen Lackmus beibehalten — mit je einer Spur *Prodigiosus*-Bouillon beimpft; nach 3 Tagen fanden sich typische Kulturen des *Bact. prodigiosum* vor, das Mycelwachstum aber war bald aufgehalten worden; das lockere, zarte Mycel ballte sich zusammen und sank zu Boden. Einige durch Entfernen des Wattebausches der Luftinfektion zugänglich gemachte Kulturen verhielten sich analog. —

b) Das gleiche Resultat lieferte die Untersuchung eines ebenfalls mit *Nectria cinnabarina* befallenen Ulmenastes, dessen Zweige oberhalb des mit Fruchtkörpern besetzten Rindenbezirkes zum Teil eingegangen waren. Die mikroskopische Prüfung zeigte, daß im Holz ein Pilz wucherte; das kranke Holz wies gelb bis braun verfärbte Streifen auf. In gleicher Weise wie bei dem vorhergehenden Versuch wurden Späne aus dem erkrankten Holz in Gläschen mit Nährbouillon verteilt; ich stellte 6 Kulturen mit je 2 Spänen her. Unter beständigem Klarbleiben der Bouillon sproßte aus den Spänen ein dichtes Mycel hervor, das nach 8 Tagen die gesamte Flüssigkeit erfüllte. Bakterien schienen nicht vorhanden zu sein. Die Trübung in 2 Gläschen wird durch von außen dazugekommene Infektion verursacht gewesen sein. 2 Gelatineplatten, unter Beimischen einiger Ösen der klaren Flüssigkeit gegossen, blieben steril.

c) Aus demselben Aststück, nur von frischen Schnittflächen aus, stellte ich weitere 6 Kulturen her: nach 7 Tagen war in keinem Gläschen Bakterienentwicklung eingetreten, während in 3 Kulturen aus den Spänen dichtes Mycel hervorgewachsen war. 2 Kontrollkulturen, mit heruntergefallenen Spänen beschickt, zeigten sich nach 2 Tagen stark getrübt; eine schwache Mycelentwicklung wurde bald ganz unterdrückt. —

3) Es folgen 3 Versuche mit einem Ast der Kastanie *(Aesculus hippocastanum)*, der von *Nectria cinnabarina* befallen war. Rinde und Holz des 5 cm starken Astes waren teilweise abgestorben. Die Grenze zwischen krankem und gesundem Holz war deutlich zu erkennen: das erstere trocken und mit bräunlichen Streifen durchzogen, das letztere feucht und von homogener Färbung. Die mikroskopische Untersuchung ergab das Vorhandensein von Pilzmycel im erkrankten Holz.

a) Es wurden 8 Gläschen, Nährlösung enthaltend, mit Spänen aus dem kranken Holz beschickt und 8 Tage lang beobachtet. In keiner Kultur erfolgte Bakterienentwicklung. Aus den Spänen sproßte ein feines Mycel; es zeigte sich, daß bei den Spänen, die einen das kranke Holz durchziehenden dunklen Streifen in sich faßten, das Mycel vornehmlich aus diesem Streifen herauswuchs und den Span bürstenartig überzog. Schließlich wurden einige Kulturen mit Bakterien beimpft, wobei darauf geachtet wurde, möglichst wenig Impfmasse zuzuführen; die Bakterien *(B. prodigiosum, B. pyocyaneum)* entwickelten sich, bald war deutliche Trübung zu erkennen, das Mycel verlor seine zarte Struktur und ballte sich zusammen. Auch hier zeigte das Mycel die gleiche Empfindlichkeit gegenüber Bakterien wie in Versuch 2a (S. 16).

b) Ein zweiter Versuch mit Spänen aus dem gleichen Aststück, aber $^1/_2$ m unterhalb der ersten Versuchsstelle entnommen, ergab 7 Kulturen mit Mycelentwicklung; 1 Glas war mit Bakterien infiziert, Mycel gelangte nicht zur Entwicklung, obwohl auch hier die Späne dem streifigen Holz entstammten.

c) Der 3. Versuch lieferte 7 Gläschen mit Spänen aus streifigem Holz. In 5 Kulturen erfolgte Mycelentwicklung; sämtliche Kulturen blieben völlig klar.

4) Morsches, zersetztes Holz.

Es handelte sich um einen alten Stamm von *Crataegus oxyacantha* mit 12 cm mittlerem Durchmesser, der seit September 1914

auf einem Holzstoß im Freien gelagert hatte, im Februar 1915 zersägt und untersucht wurde. Ein Teil des Kernes war völlig verfault, zum Teil hohl und mit brauner, krümeliger Masse erfüllt. Das übrige Holz zeigte sich mit verschiedenfarbigen Streifen durchzogen, war aber braun und hart, während einige größere Lamellen aus gelbem, sehr weichem, morschem Holz bestanden. Wo diese zersetzte Holzmasse die Rinde erreichte, war letztere vom Holzkörper abgesprengt. Auf einige gesunde Rindenpartien folgte normales, feuchtes Splintholz.

Auf die übliche Weise wurden dem Holz eine größere Anzahl Späne entnommen und in verschiedenem Nährsubstrat verteilt, und zwar aus folgenden Zonen:

a) 5 Gläser mit Spänen aus dem gelben, morschen Holz,

b) 2 „ desgl., aber ohne Vorsichtsmaßregeln entnommen,

c) 4 Agarplatten mit Spänen aus demgl., unter aseptischen Kautelen belegt,

d) 3 Gläser mit Spänen aus dem braunen, harten Holz,

e) 3 Agarplatten mit demgl.

Ergebnis:

a) Nach 6 Tagen: Die Flüssigkeit ist in allen Gläschen klar geblieben, dagegen ist aus allen Spänen dichtes Mycel hervorgewachsen. Nach 25 Tagen derselbe Befund; das Mycel hat die Flüssigkeitsoberfläche erreicht. 1 Glas wurde darauf mit *Bact. prodigiosum* beimpft, und 1 der Luftinfektion ausgesetzt; nach 3 Tagen fand sich in beiden Kulturen lebhafte Bakterienentwicklung vor, die das Mycel völlig unterdrückte.

b) Nach 3 Tagen: Die Kulturen sind getrübt, Mycel ist nicht wahrzunehmen und bleibt auch fernerhin aus.

c) Die Platten sind nach 10 Tagen mit einem dichten, blendend weißen Mycel überzogen, das seinen Ausgang von den Spänen nimmt. Bakterienkolonien sind nicht vorhanden. Das Mycel nimmt nach längerer Zeit (25 Tage) gelbliche Färbung an.

d) Nach 6 Tagen: Die Flüssigkeit ist klar geblieben und auch mycelfrei. Die Kulturen bleiben weiterhin steril.

e) Die Platten bleiben während der Beobachtungsdauer von 25 Tagen steril. —

Aus diesen Versuchen können wir schließen, daß auch in pilzkrankem und zersetztem Holz Bakterien nicht anzutreffen sind. Dieses Ergebnis wird noch durch die folgenden Fälle gestützt.

5) *Prunus avium.*

Die Holzspäne entstammten einem Kirschbaum, der, aus unbekannten Gründen eingegangen, gefällt werden mußte. Am Fuße des Stammes fand sich eine große, bis tief in den Kern gehende Wunde vor; das Holz war hier braun und bröcklich. Die jüngeren Splintlagen waren zum größten Teil gesund; an einigen Stellen trat Gummifluß hervor. — Ich entnahm eine Anzahl Späne sowohl dem braunen, zentralen, an die Wunde angrenzenden Holzkörper, als auch dem Splintholz.

Ergebnis:

5 Agarplatten mit je 2 Spänen aus dem Splintholz blieben 8 Tage lang steril; 4 Platten wurden mit Spänen aus dem braunen, morschen Kernholz belegt: auf 3 von ihnen entwickelte sich von den Spänen aus ein langsam wachsendes, schwärzliches Mycel, 1 Platte blieb steril, und schließlich wurden noch Späne aus dem braunen, harten Teil des Kernes in 4 Gläschen mit Nährbouillon verteilt; diese Kulturen blieben steril, auch Mycel war nicht vorhanden. —

6) *Prunus triloba.*

Der pilzkranke Stamm besaß einen mittleren Durchmesser von 25 cm und breitete in 1,5 m Höhe seine Krone aus, die sich teils aus abgestorbenen, teils aus gesunden Ästen und Zweigen zusammensetzte. Die Rinde war an einer Seite des Stammes in ganzer Länge vom Holz gelöst; auf ihr und auf dem freiliegenden Holzkörper saßen zahlreiche Fruchtkörper eines *Polyporus.* Auf den übrigen Teilen des Stammes waren einzelne gesunde Rindenpartien noch fest mit dem Holz verwachsen, einzelne Partien waren abgestorben und mit Fruchtkörpern des Pilzes besetzt. Im ganzen erschien der Holzkörper ziemlich weitgehend erkrankt, seine Färbung war durchgängig braun und von gelben Lamellen durchsetzt. Unter den gesunden Teilen der Rinde fanden sich einige Lagen gelben, frischen Splintholzes vor, deren Abgrenzung gegen das braune, erkrankte Holz durch rotbraune Streifen besonders gekennzeichnet war.

Aus verschiedenen Holzteilen wurden Späne in Nährsubstrat gebracht. Das folgende Ergebnis setzt sich aus 2 Versuchen zusammen.

a) Späne aus dem braunen, harten Holz, derart, daß sie ein Stück normalen Splintes und den roten Streifen an der Grenze des braunen Holzes mit in sich fassen, in 12 Gläschen mit steriler Nährbouillon verteilt.

b) Späne aus demgl., auf 4 Nähragarplatten gebracht.

c) Späne aus dem hellen, anscheinend normalen Splint auf 2 Gläser und 2 Platten verteilt.

d) Späne aus dem zentralen Teil des Stammes (braunes Holz mit gelben Lamellen) auf 4 Gläser und 4 Platten verteilt. —

Ergebnis:

a) Nach 5 Tagen: Die Flüssigkeit ist in allen Kulturen klar geblieben, aus den Spänen ist Mycel hervorgesproßt; besonders aus den roten Streifen ist eine dichte Mycelbürste herausgewachsen. Nach 22 Tagen: Die Flüssigkeit ist klar, das Mycel kräftig weitergewachsen und rein weiß geblieben.

b) Nach 5 Tagen: Weißes, wolliges Mycel verbreitet sich von den Spänen aus über den Nährboden. Bakterienkolonien sind nicht vorhanden. Das Mycel wird nach längerer Zeit gelb.

c) Die flüssigen Kulturen wie die Agarplatten bleiben steril (22 Tage).

d) Nach 5 Tagen: Gläschen und Platten sind bakterienfrei. Aus allen Spänen ist Mycel hervorgesproßt. Derselbe Befund nach 22 Tagen; das Mycel auf den Platten hat gelbe Färbung angenommen. —

7) Zu einem letzten Versuch diente der völlig morsche Stumpf einer Fichte *(Picea excelsa)*. Der inneren, weißen, feuchten, pappeartigen Masse entnahm ich unter sterilen Außenbedingungen einzelne Partikel und verteilte sie in 9 Gläser mit Nährbouillon. Nach 10 Tagen war die Flüssigkeit in 8 Gläsern völlig klar, die Holzteilchen zeigten sich in weißes Mycel eingehüllt. In einem Glase war durch Bakterienentwicklung das Mycel zurückgedrängt. Einige Mycelkulturen wurden mit *Bact. prodigiosum* beimpft, das sich lebhaft entwickelte und weitere Mycelbildung unterdrückte.

Die Nährflüssigkeit war demnach für Bakterienentwicklung nicht ungeeignet geworden.

Wie schon eingangs erwähnt, blieb bei allen Versuchen die Natur der isolierten Pilze unerörtert. Es erschien für unsere Fragestellung ohne Bedeutung, etwa die Identität der kultivierten Mycelien mit dem äußerlich erkennbaren, vermeintlichen Erreger der Holzerkrankung festzustellen. In einigen längere Zeit aufbewahrten Kulturen blieben die Myceldecken rein weiß, also anscheinend steril. —

Allgemeine Betrachtung.

Die vorstehend beschriebenen Versuche berechtigen — zunächst in bezug auf krautige Pflanzen — zu dem Schluß, daß das normale, gesunde Pflanzengewebe als frei von den Bakterien und Pilzen zu betrachten ist, die auf den gebotenen Nährböden wachsen können. Die zu einem geringen Prozentsatz auftretenden infizierten Kulturen, die bei solchen Versuchen nie ganz ausbleiben dürften, können ohne Bedenken auf Infektionen seitens der Luft, seitens der benutzten Instrumente, seitens der den Pflanzen äußerlich anhaftenden Bakterien zurückgeführt werden. Die Versuche 1—4 unter A (S. 10) zeigen, daß Sterilität der Kulturen wohl erreichbar ist, die Verwendung einwandfreier Versuchsobjekte vorausgesetzt. Es steht nichts im Wege, diese Möglichkeit auch auf alle anderen Versuche zu übertragen. Es erscheint jedoch nicht erforderlich, die Bemühungen bis zu solchem Ziele fortzusetzen; wären Bakterien normalerweise im Gewebe vorhanden, so müßten sie wohl in mehr als 2 von 12 Kulturen von demselben Pflanzenteil zur Entwicklung gelangen.

Bei den Versuchen mit *Dahlia*-Knollen und mit Wurzeln (S. 12) ist die Zahl der fertilen Kulturen im Verhältnis zu den sterilen etwas größer als bei den Versuchen 5—15. Die Knollen von *Dahlia* waren nicht frisch der Erde entnommen, sondern hatten über den Winter gelagert. Nun haben einige Forscher angenommen, daß bei nicht frischen Pflanzen eine Besiedelung des inneren Gewebes mit Bakterien erfolge; untersuchte Di Vestea (40) frisch ausgegrabene Pflanzen, so erzielte er sterile Kulturen; hatten die Pflanzen 24 Stunden oder länger gelagert, so ergaben neue Versuche oft entgegengesetzte Resultate. Auch Potter (32, S. 636) weist darauf hin, daß er in Knollen und Wurzeln, die 3 Tage im Laboratorium in Wasserdampfatmosphäre aufbewahrt worden waren,

meist Bakterien nachweisen konnte. — Vielleicht hat diese Erscheinung ihre Ursache darin, daß bei Versuchen mit welkenden Pflanzen die Gefahr einer Infektion, die von der dann möglicherweise noch schwerer zu desinfizierenden Oberfläche herrührt, sich gesteigert hat. Es ist noch nicht geklärt, ob tatsächlich in diesen Fällen eine Besiedelung des Gewebes mit Bakterien erfolgt; es wird hier auch in Betracht zu ziehen sein, daß durch Veränderungen der Pflanzenoberfläche, wie Einschrumpfen und Rissebildung infolge längeren Lagerns, die Bakterien etwas nach innen verlagert werden könnten und dann beim Isolieren von Gewebepartikeln immer nur als Oberflächenbakterien die Kulturen verunreinigen. Ich brachte einige Gewebestücke unter ähnliche Bedingungen wie im Versuche Potters: Eine *Dahlia*-Knolle wurde einmal durchschnitten, mit etwas bakterienhaltigem *(B. prodigiosum)* Wasser übergossen und in feuchter Kammer bei 30° C 6 Tage lang stehen gelassen. Die darauf dem Innern entnommenen Gewebepartikel verursachten in allen Kulturen Trübung. Nach einem zweiten, in gleicher Weise vorgenommenen Versuch mit Rhizomen von *Iris florentina* erwies sich das Innere als keimfrei. Jedenfalls werden, wenn wirklich unter diesen Bedingungen eine Besiedelung der Interzellularen bezw. der Gefäße mit Bakterien erfolgen sollte, verschiedene Pflanzen nicht gleichartiges Verhalten zeigen. — In diesem Zusammenhang sei noch bemerkt, daß die Kohlrabiknollen, Rüben und Möhren, deren inneres Gewebe vollkommen frei von Bakterien war (vgl. S. 10), nicht frisch der Erde entnommen waren, sondern den Verkaufsständen der Markthalle entstammten.

Die Tatsache, daß normalerweise das Pflanzengewebe keine Bakterien beherbergt, läßt zugleich schließen, daß unter gewöhnlichen Umständen ein Eindringen und Lebendbleiben von Bakterien nicht erfolgt, obwohl Zugangspforten z. B. in den Spaltöffnungen gegeben sind, die von gewissen parasitischen Bakterien auch benutzt werden. Vielleicht wirkt hier das Gewebe der Pflanzen mit seinen luftführenden, trockenen Interzellularen ähnlich wie das Gefüge der Baumwolle: die Bakterien werden, da sie eines zum Ausüben von Eigenbewegungen geeigneten Mediums entbehren, mechanisch am Einwandern gehindert und scheinen auf die Pflanzenoberfläche beschränkt zu sein, wo allerdings gewisse Arten von ihnen, wie schon Burri (5, S. 759) feststellte, nicht im Zustande der Ruhe verharren, sondern durch lebhafte Vermehrung erkennen lassen, daß sie dort gute Lebensbedingungen vorfinden. Im Hinblick

auf die geringen Ansprüche, die diese Oberflächenbakterien an das Substrat zu stellen scheinen, wird die Möglichkeit ihres Aufenthaltes in den Atemhöhlen, Interzellularen und sonstigen Hohlräumen der Pflanze nicht von der Hand zu weisen sein, und es dürfte nur an der ihnen mangelnden Fähigkeit des aktiven Vordringens auf diesen Wegen liegen, daß wir im Pflanzeninnern keine Bakterien vorfinden. Nur ist dabei nicht erwiesen, ob die Hohlräume auch der äußersten Gewebeschichten — z. B. die Atemhöhlen — gänzlich frei von Bakterien sind. Dies durch Isolieren von Gewebepartikeln und Nachweis von Bakterien auf kulturellem Wege zu ermitteln, ist aus technischen Gründen schwer möglich.

Nebenbei erwähnt, werden in den auf der Pflanzenoberfläche lebenden Bakterien — zu den besonders häufigen gehören nach Düggeli (10) *B. herbicola aureum, B. fluorescens,* auch *B. coli* — die Mißerfolge mancher Versuche, Gewebe steril zu isolieren, ihre Ursache haben; wie Düggeli (10, S. 603) fand, haften diese epiphytischen Mikroorganismen infolge Schleimbildung sehr fest an der Epidermis. Bei meinen Versuchen war die Anwesenheit fluoreszierender Bakterien in den meisten infizierten Kulturen augenscheinlich.

Einige Forscher haben nun Versuche angestellt über das Verhalten von bestimmten, dem Erdboden in Aufschwemmungen zugeführten Bakterien gegenüber Pflanzen, die in solcher Erde aufwachsen. Eindeutige Resultate erzielte Clauditz (9): in der Erde befindliche Typhusbakterien dringen selbst bei Wurzelverletzungen nicht in die Pflanzen ein, sondern halten sich an den Außenflächen der Gewächse auf und leben dort je nach Art der Pflanze kürzere oder längere Zeit. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen Ellrodts (11); nach ihm sollen in Bohnenpflanzen, die in einer mit *Bact. pyocyaneum* infizierten Nährlösung aufwuchsen, nach Verletzung der Wurzeln die Bakterien im Saft des Stengels vorzufinden gewesen sein, während bei unverletzten Wurzeln kein Eindringen erfolgte. Auch aus Versuchen neueren Datums (Ciocalteu, 8) ist wieder geschlossen worden, daß Wurzelläsionen Bakterien als Eingangspforten dienen könnten. Man wird sich, solange keine eindeutige Klärung vorliegt, zunächst an das von Clauditz erzielte Ergebnis halten können, in Übereinstimmung mit der Feststellung Russells (33, S. 233), wonach es unmöglich war, Bakterien, die zu einem parasitären Leben im Gewebe nicht geeignet sind, aus Pflanzen zu isolieren, nachdem Pflanzen und ihre Standorte

mehrere Tage mit Bakterienaufschwemmung bewässert worden waren.

Im allgemeinen scheint also das pflanzliche Gewebe den Bakterien gegenüber als vollkommenes Filter zu wirken, sofern es sich nicht um Bakterien handelt, die zum Angriff auf das lebende Gewebe befähigt sind, oder um Gewebe, das, durch irgendwelche Schädigungen geschwächt, wohl gelegentlich auch von harmlosen Bakterien besiedelt wird. —

Haben wir bisher den normalen Zustand der Pflanze ins Auge gefaßt, so fragt es sich nun, ob z. B. bei Verwundungen ein wesentlich geänderter Zustand hinsichtlich der Möglichkeit des Eindringens harmloser Bakterien in die Pflanze gegeben ist. Unter Verwundung sind dabei nicht nur augenfällige Zerstörungen größerer Gewebekomplexe zu verstehen, sondern auch kleinste Spalten, Risse, Insektenstiche usw., die sich dem unbewaffneten Auge entziehen. Könnte von hier aus die Bevölkerung des Pflanzeninneren mit Bakterien erfolgen, so müßte wohl das Vorkommen von Bakterien im Gewebe fast allgemein sein.

Es wird nun im 3. Abschnitt vorliegender Arbeit dargetan werden, daß besonders saprophytische Bakterien sich beträchtlich lange Zeit im Gewebe lebend erhalten können; ebensowenig aber wie sie sich von einer Injektionsstelle aus merklich weiter ausbreiten, werden sie auch bei Verletzungen der Pflanze in der Natur über den Wundbezirk hinaus anzutreffen sein. Dazu kommt, daß die Pflanze bekanntlich sehr rasch mit der Bildung von Wundkork und anderen Schutzmaßregeln reagiert und ein Abschluß der Wunde erreicht wird, worauf schon Fischer in diesem Zusammenhang hinweist (13, S. 275). Es sei nicht versäumt, hier anzufügen, daß Wunden bei Anwesenheit pflanzenpathogener Bakterien natürlich eine große Gefahr bedeuten; die meisten pflanzlichen Bakteriosen gehen von Wunden aus. Doch besitzen die hierbei in Frage kommenden Bakterien die Fähigkeit, das Gewebe anzugreifen, sich durch Abscheidung von pektin- und zelluloselösenden Enzymen durch die Zellen hindurchzuarbeiten und eine Massenwirkung zu entfalten, während beliebige Bakterien dadurch, daß sie z. B. bei Injektionen auf den Wundbezirk beschränkt bleiben, ihre Indifferenz gegenüber dem Gewebe offenbaren (vgl. Abschnitt III).

Wenden wir uns noch zu den unterirdischen Pflanzenorganen, so könnte die bereits auf S. 392 erwähnte Feststellung von Smith (34, S. 26), der einige Male in Wurzeln Bakterienvegetation vor-

fand, zu der Frage veranlassen, ob die Wurzeln im Hinblick auf das Vorkommen von Bakterien eine Sonderstellung beanspruchen dürfen. Wurzeln stehen ja in engem Konnex mit der Bakterienvegetation des Bodens und sind Verletzungen in hohem Maße ausgesetzt. Es liegt kein Grund vor, für sie hinsichtlich der Besiedelung mit Bakterien andere Verhältnisse anzunehmen als für oberirdische Pflanzenteile; auch hier wird, sofern es sich um gesundes Gewebe handelt und bei Verletzung nicht Fäulnis oder Krankheit Platz greifen, ein Vordringen von Bakterien harmloser Natur nicht erfolgen. Die Ergebnisse, die ich mit einigen unterirdischen Pflanzenorganen erzielte (s. S. 12), weisen darauf hin, daß auch das Wurzelgewebe normalerweise frei von Bakterien sein dürfte. —

Auch in den Holzgewächsen sind, wie die entsprechenden Versuche (unter B und C) ergeben, Bakterien und Pilze unter normalen Verhältnissen nicht angetroffen worden. Es ist wenig wahrscheinlich, daß selbst in noch weiter ausgedehnten Untersuchungen sich ein anderes Resultat ergeben könnte. Die Existenzmöglichkeit zunächst von Bakterien im Holzkörper kann — hinsichtlich der dort gebotenen Lebensbedingungen — nicht von vornherein als ausgeschlossen betrachtet werden. Nährstoffe sind für Bakterien schon im Saftstrom vorhanden, der ja Zucker und anorganische Salze mit sich führt, und es ist nicht erwiesen, ob gewisse Substanzen des Holzkörpers etwa antiseptisch wirken. Auch sind gewisse Krankheiten der Holzgewächse als von Bakterien verursacht erkannt worden (z. B. Bakterienbrand der Obstbäume, Tuberkeln des Ölbaums); wenngleich hier vornehmlich die Rinde der Sitz der Zerstörer zu sein scheint, wird doch auch der Holzkörper von ihnen befallen (vgl. z. B. Sorauer, 36, S. 24, 41, 57). Daß auch sonst Bakterien sich im lebenden Holzkörper lange lebend erhalten können, wird im III. Abschnitt vorliegender Arbeit durch einige Beobachtungen dargetan werden.

Die Keimfreiheit gesunden Holzgewebes wird in ähnlichen Erwägungen eine zwanglose Erklärung finden können, wie sie bereits für die Verhältnisse bei krautigen Gewächsen angestellt wurden, wo besonders auf das behinderte Vordringen der Mikroorganismen hinzuweisen war. Der Holzkörper erscheint durch das Rindengewebe in noch höherem Maße gegen Bakterien abgeschlossen und geschützt, als das innere Gewebe krautiger Pflanzen durch die Epidermis. — Auf die Befunde bei anormalen Verhältnissen, besonders bei Erkrankungen des Holzes, wird weiter unten einzugehen sein. —

Hier sei noch mit Rücksicht darauf, daß auch Pilzvegetation normalerweise in Splint- und Kernholz nicht anzutreffen war, die Frage eingeschaltet: Wie verhalten sich in der Natur die Pilze gegenüber dem lebenden pflanzlichen Gewebe? — Konnte man geneigt sein, anzunehmen, daß Bakterien unter gewöhnlichen Umständen das Gewebe deshalb nicht besiedeln, weil ihnen das Vordringen durch Stomata und Interzellularen schon aus mechanischen Gründen nicht möglich sein dürfte, so kann diese Annahme nicht für die Pilze gestellt werden; diese sind den Bakterien gegenüber insofern im Vorteil, als sie infolge der wachsenden Hyphenspitze zunächst zu aktivem Vordringen auch durch trockene und nahrungsarme Räume befähigt sind. Ein anschauliches Beispiel bietet das Durchwachsen von Pilzmycel durch Baumwolle. Bekanntlich besiedeln nun viele parasitische Pilze auf die Weise das Pflanzeninnere, daß sie ihre Hyphen zunächst in die Spaltöffnungen einsenken, dann aber nicht in den Hohlräumen des Gewebes weiterwachsen, sondern in die Zellen selbst eindringen, was durch mannigfache, meist zusammenwirkende Mittel erreicht wird: neben der mechanischen Leistung des Einbohrens der Hyphenspitze in die Zellwände kommen zelluloselösende Enzyme und Vergiftung des Protoplasten in Betracht. Aber nicht alle Pilze verfügen namentlich über die letztgenannten Kampfmittel; ist durch die Untersuchungen von Miyoshi (27) dargetan, daß gewöhnliche Schimmelpilze, dirigiert durch chemischen Reiz, Zellulosemembranen wohl durchdringen können, so vermögen sie diese Fähigkeit in der Natur dem gesunden Gewebe gegenüber im allgemeinen nicht zur Anwendung zu bringen, und zwar wird dies nach Nordhausen (29, S. 45) der mangelnden Giftwirkung zuzuschreiben sein; nur gelegentlich fällt ihnen in seiner Lebensenergie geschwächtes oder sonst wenig resistentes Gewebe, wie z. B. Fruchtfleisch, zum Opfer. Muß nun allen Pilzen die Fähigkeit zuerkannt werden, vermöge des Hyphenwachstums in den Hohlräumen des Gewebes vordringen zu können, so werden gewöhnliche Schimmelpilze, da ihnen die Nährstoffe in den Zellen unzugänglich sind, ihr Wachstum infolge Nahrungsmangels bald einstellen müssen, während parasitische Pilze durch Zerstörung des Gewebes und Aufnahme der Nährstoffe in den von ihnen getöteten Zellen zu immer neuem Vordringen erstarken. — Wir müssen annehmen, daß Splint- und Kernholz nur solchen Pilzen zugänglich sind, die das Gewebe zugleich in einen anormalen Zustand versetzen.

Bei Verletzungen, die ja an Holzgewächsen immer anzutreffen sind, wäre es bei günstigen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen denkbar, daß zunächst an der Wundstelle — z. B. an einem Aststumpf — sich saprophytische Pilzvegetation entwickelt und dann von hier aus Mycelstränge in das Holz ausgesandt werden. Nun vermag aber der pflanzliche Organismus durch Bildung von Wundgewebe, durch Verschluß der Gefäße nach Verwundung (Haberlandt, 16, S. 291) einem weiteren Vordringen Barrikaden entgegenzustellen, die nur von gewissen Pilzen überwunden werden. Auch hier scheint die Giftwirkung seitens des Pilzes eine entscheidende Rolle zu spielen; gegenüber Eindringlingen, die nur über geringe Giftwirkung verfügen, werden die Reaktionen des verwundeten Gewebes volle Wirkung entfalten und tiefere Gewebeschichten von Schmarotzern freihalten (vgl. Nordhausen, 29, S. 44, 45). — Die abgestorbenen Partien des Holzkörpers — besonders das Kernholz —, die zu solchen Reaktionen nicht mehr fähig sind, erscheinen deshalb für Pilzbesiedelung wenig geeignet, weil die Hohlräume, die hier für ungehindertes Fortwachsen von Mycel in Frage kommen, gewöhnlich verschlossen sind, und außerdem diese Gewebepartien sich durch Armut an solchen Stoffen auszeichnen, die für gute Pilzvegetation erforderlich sind (s. Lafar, 23, S. 291).

Unsere Kenntnis über das Vorkommen von Pilzen in Splint- und Kernholz dürfte somit auf die Erscheinungen bei Erkrankungen des Holzes durch parasitische Pilze — parasitisch in weiterem Sinne gefaßt — beschränkt bleiben, und wir werden das Holz solcher Gewächse, die wir nicht als erkrankt bezeichnen müssen, als völlig frei von Pilzvegetation betrachten können. —

Überblicken wir zum Schluß die Untersuchungen des anormalen bezw. pilzkranken Holzes, so ist aus den Ergebnissen zu ersehen, daß in erkranktem Holz wohl Pilze, nicht aber Bakterien — wenigstens auf dem Weg der hier geübten Methode — vorgefunden wurden. Das bezieht sich selbst auf weitgehend zerstörtes Holz; es sei auf die Versuche mit dem morschen Teil des *Crataegus*-Stammes (S. 18), mit dem völlig zersetzten Holz des Fichtenstumpfes (S. 21), mit dem erkrankten Holz der Kirsche (S. 20) hingewiesen, und in einigen Fällen lag völlig bloßgelegte Holzsubstanz vor. Im Hinblick auf die Art des Nachweises der Mikroorganismen ist natürlich angenommen worden, daß es sich um Bakterien handeln würde, die in dem gebotenen Nährsubstrat zur Entwicklung gelangen konnten.

Man sollte meinen, daß beim Eindringen von Pilzen in das Holz auch Bakterien, denen gewöhnlich in den Zellwänden unüberwindliche Hindernisse entgegengestellt sind, der Zutritt möglich werde, denn das Mycel der holzzerstörenden Pilze nimmt seinen Weg durch die Zellwände, wobei diese durchbohrt werden und außerdem häufig der feste Zellverband durch Auflösen der Mittellamelle seitens des Pilzes gelockert wird. Dadurch erscheinen für Bakterien die Wege in das Holz geebnet, sei es, daß sie zugleich mit dem Mycel eindringen, sei es, daß sie vielleicht nachträglich, etwa durch Wasser mitgeführt, das Holz besiedeln. Das bei allen Versuchen konstatierte Fehlen der Bakterien in pilzkrankem Holz könnte nun nach zwei Gesichtspunkten hin gedeutet werden: einmal wird die Art und Weise des Vordringens des Mycels in das Holz, das andere Mal die Existenzmöglichkeit von Bakterien in dem durch die Tätigkeit des Pilzes veränderten Holz in Betracht zu ziehen sein.

Bezüglich des ersten Punktes wäre auf eine Feststellung Nägelis (28, S. 409) hinzuweisen, nach der beim Durchwachsen von Pilzmycel durch geeignete Membranen oder durch Baumwolle Bakterien und andere Mikroorganismen zurückgehalten werden und man auf diese Weise eine von Bakterien freie Pilzvegetation erzielt. Wir können uns vorstellen, daß beim Vordringen von Pilzfäden in das Holz, wobei Membranen — hier die Wände der Holzzellen und Gefäße — durchdrungen werden, die Bakterien auf die gleiche Weise am Mitwandern verhindert sind. Diese Deutung würde sich auf die Phasen der Erkrankung, in denen das Mycel in kräftigem Vordringen begriffen ist, sehr gut anwenden lassen. Ohne Zweifel wird so an der Grenze zwischen krankem und gesundem Holz reine Pilzvegetation herrschen, was auch durch die Versuchsergebnisse Bestätigung findet. — Bemerkenswert sind in diesem Zusammenhang auch die Versuche von Buller (4, S. 33 bis 36), der das Eindringen von Pilzhyphen in tote, unverletzte Zellen beobachtete, wenn zugleich auch Bakterien in Berührung mit den Zellen standen. Er stellte fest, daß Bakterien durchaus zurückgehalten wurden, und verlegt die Erklärung hierfür auf physikalisches Gebiet: bei dem Vorgang des Durchbohrens der Zellwand wird dadurch, daß in keinem Falle ein größeres Loch in der Zellwand entsteht, als dem Durchmesser der Hyphe entspricht, keinerlei Lücke geschaffen, die Bakterien zum Einwandern dienen könnte.

Nun bleiben aber in den Teilen des kranken Holzes, wo der Pilz sich nicht mehr in voller Lebenstätigkeit befindet, die Durchlochungen der verholzten, wenig elastischen Membranen erhalten, und bei weitgehender Zerstörung hat, worauf schon hingedeutet wurde, die Struktur des Gewebes meist dadurch stark gelitten, daß die Zellen infolge Auflösung der Mittellamellen des festen Verbandes verlustig gehen und schließlich Zerfall eintritt. Durch diese Veränderungen, die für erkranktes Holz typisch sind, scheint der Besiedelung des letzteren mit Bakterien nichts im Wege zu stehen. Aber auch in völlig zerfallenem Holz, aus dem sich Mycel isolieren ließ, konnten Bakterien nicht nachgewiesen werden (s. S. 21). Dies läßt vermuten, daß Bakterien dort nicht ihre Lebensbedingungen antreffen und vielleicht infolge von Stoffwechselprodukten des Pilzes nicht aufkommen. Man könnte hier daran denken, die bekannten Konkurrenzverhältnisse zwischen Bakterien und Pilzen bei gleichzeitiger Anwesenheit im Substrat auch in das erkrankte Holz als Schauplatz sich abspielender antagonistischer Beeinflussung der Organismen zu verlegen. Diese Vermutung würde nähere Untersuchung fordern; es ist z. B. wenig erforscht, was in chemischer Hinsicht in dem durch Pilzwirkung zersetzten Holz anzutreffen ist, und ob vielleicht hier irgendwelche Stoffe die Entwicklung von Bakterien zu verhindern imstande wären. Bei seinen Studien über Holzinfektionen mit parasitischen Pilzen kommt Wehmer (43, S. 569) zu der Ansicht, daß „das infizierte Holz eine chemisch und biologisch abweichende Beschaffenheit haben wird, die aus irgend einem Grunde drohende Bakterienkonkurrenz beseitigt". —

Es erscheint schwierig, das hier zu einer Klärung der Frage geeignete Experiment anzustellen; im Anschluß an die Untersuchung des zersetzten Holzes in einem *Crataegus*-Stamm (Vers.-Nr. 4 S. 18) machte ich noch folgenden Versuch: Das Stammstück war nach Verwendung im Februar 1915 unter einer feuchten Glocke aufbewahrt worden. Dem morschen Teile des Stammes entnahm ich (Mai 1915) unter aseptischen Kautelen eine Anzahl Späne, brachte sie in Nährbouillon und überzeugte mich, daß auch jetzt nur Mycel den Spänen entsproß. 10 Späne wurden in sterilisierte, mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegte Petrischalen überführt, und am nächsten Tage, als ein feiner Mycelrasen sichtbar ward, wurden einige Späne mit je einer kleinen Öse *Prodigiosus*- bezw. *Pyocyaneus*-Bouillon beimpft. Nach weiteren 5 Tagen — das Mycel hatte sich

etwas weiterentwickelt — brachte ich die beimpften Späne in Gläser mit Nährbouillon. Es zeigte sich, daß die Bakterien durch die enge Berührung mit dem Mycel anscheinend nicht geschädigt waren, sie entwickelten sich lebhaft und ließen das Mycel in der Flüssigkeit nicht aufkommen. Dieses Resultat weist nur auf die hohe Empfindlichkeit des Mycels gegen Bakterienentwicklung hin, eine Erscheinung, die auch von Wehmer bei holzzerstörenden Pilzen beobachtet worden ist (43, S. 568). Daraus kann nicht gefolgert werden, daß auch im Holz die Bakterien die Oberhand gewinnen würden. Vielmehr dürfte dort eine Verkettung von Faktoren die Bakterienentwicklung verhindern, während im Versuch die Bakterien zu einseitig nur mit dem Mycel in Berührung kommen und der Vorgang der Holzzerstörung mit den verschiedenen chemischen Umsetzungen im Holz nicht in den Vordergrund tritt. Es würde des weiteren etwa zu beobachten sein, ob Bakterien, die dem pilzkranken Holz injiziert werden, sich darin lebensfähig erhalten können.

Die Kontrollkulturen, durch die ich mich überzeugte, daß die Nährlösung durch die Entwicklung des Mycels für Bakterienentwicklung nicht ungeeignet geworden war, zeigen ebenfalls die Überlegenheit der Bakterien über das Mycel unter den im Versuch gebotenen Bedingungen. Einen Einblick in diese Konkurrenzverhältnisse gewähren auch schon die fast bei allen Versuchen vereinzelt auftretenden infizierten Kulturen; hier war bei dem Isolieren der Späne aus dem verpilzten Holz offenbar nicht volle Asepsis gewahrt gewesen, und es entstand lebhafte Bakterienentwicklung, die jede Mycelbildung unterdrückte, während die unter aseptischen Kautelen gewonnenen Holzpartikel nur Pilzvegetation verursachten. —

Vermögen die mit erkranktem Holz vorgenommenen Versuche darzutun, daß in solchen Fällen der Pilz allein das Feld zu behaupten scheint, so wird indessen nicht zu bezweifeln sein, daß bei der endlichen Zersetzung der Holzsubstanz auch Bakterien mitwirken werden; nur dürfte — speziell in bezug auf Holz, das von Pilzen befallen ist — ihre Mitwirkung sich gewöhnlich erst sehr spät nach dem Zerstörungswerk der Pilze entfalten. —

Das Ergebnis, daß Bakterien in gesundem Splint- und Kernholz und auch in erkranktem Holz nicht nachzuweisen waren, steht in gewissem Gegensatz zu Erfahrungen, die Störmer (35, S. 134 bis 140) bei dem Studium von Obstbaumkrankheiten machte. Er

kommt zu dem Schluß, daß frühzeitig das Holz der Bäume von der Wurzel aus mit einer zunächst rein saprophytisch sich ernährenden Bakterienflora besiedelt wird, die bei herabgesetzter Widerstandsfähigkeit des Holzes geeignet sei, anderen Parasiten den Angriff zu erleichtern und wohl auch selbst Krankheiten zu verursachen. Die Art des Nachweises ist ähnlich der in vorliegender Arbeit geübten. So enthält nach Störmer das Kernholz erkrankter Kirschbäume stets Bakterien. Sie waren auch an solchen Stellen anzutreffen, die äußerlich gesund erschienen und einen sterilen Splint aufwiesen; schließlich soll auch das Holz junger, gesunder Bäume Bakterien beherbergt haben.

Diese Bakterien sind mir in meinen Versuchen nicht begegnet; das Kernholz der Kirsche wurde mehrfach untersucht, und auch das Splintholz der übrigen Holzgewächse war als steril zu betrachten.

II.

Wie weit vermögen Bakterien und Pilzsporen mit dem von einer Schnittfläche aufgenommenen Wasser in die Holzpflanzen einzudringen?

Bei gelegentlichen, in der pflanzenpathologischen Literatur verstreuten Erörterungen über die Bakterien als Erreger von Pflanzenkrankheiten ist in einigen Fällen auch des Transpirationsstromes im Hinblick auf die Frage gedacht, ob er etwa Bakterien, die in die Gefäße vorgedrungen sind, mit fortreißen und so zur Ausbreitung der Krankheit innerhalb der Pflanze beitragen könnte. — So hält z. B. Russell es für ausgeschlossen (33, S. 231), daß der Transpirationsstrom, der ja nur für den Transport gelöster Stoffe eingerichtet sei, solide Partikel wie Bakterien mit sich führen kann. Man darf aus der Darstellung vermuten, daß Russell dabei nur die krautigen Pflanzen ins Auge faßte und hinsichtlich der Wege, die dem aufsteigenden Wasserstrom in der Pflanze geboten sind, nicht an die oft auf ansehnliche Strecken ununterbrochenen Gefäße der Holzgewächse dachte. Es wird auch auf einen Versuch verwiesen (33, S. 231): der Stengel einer Pflanze — welcher Art, ist leider nicht angegeben — wurde mit seiner unteren Schnittfläche in eine dünne Bakterienaufschwemmung gestellt. Bei der darauffolgenden Untersuchung konnten im Gewebe des Stengels über dem Niveau der Aufschwemmung Bakterien nicht nachgewiesen werden.

Immerhin hält Russell einen geringen Aufstieg beim Ausgleich des oft in den Gefäßen herrschenden negativen Druckes für möglich. — Alfred Fischer meint (13, S. 280), daß ein Verschleppen von Bakterien in den Gefäßen bei frischem Schnitt wohl stattfinden könne, da auch Quecksilber emporsteige. —

Ich versuchte im folgenden der Frage auf experimentellem Wege näher zu treten.

In der einen Versuchsreihe stellte ich beblätterte Zweige von Holzpflanzen in dünne Aufschwemmungen von Bakterien bezw. Pilzsporen, so daß die transpirierenden Zweige den Wasserverlust aus den Aufschwemmungen ersetzen mußten. Um zu ermitteln, wie weit die Mikroorganismen im Holz mitgeführt worden waren, entnahm ich dann unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln einzelne Späne aus verschiedenen Höhen der Zweige und brachte sie in Nährsubstrat (Bouillon und Nähragar; Zusammensetzung s. S. 9 i. Abschn. I). Gelangten dann die Bakterien der Aufschwemmung in den Kulturen mit den Holzspänen zur Entwicklung, so konnte geschlossen werden, daß sie bis zu der betreffenden Höhe im Zweig mit aufgestiegen waren. Selbstverständlich war bei diesen Arbeiten peinliche Sauberkeit zu beobachten.

In der 2. Versuchsreihe preßte ich Bakterienaufschwemmung unter Druck durch Zweigstücke von wechselnder Länge. Indem ich dann die aus dem Ende des Zweigstückes austretende Flüssigkeit daraufhin prüfte, ob sie die Bakterien der hindurchgepreßten Aufschwemmung enthielt oder steril war, konnte ich feststellen, bei welcher Länge des Zweiges die Leitungsbahnen im Holz noch für bakterienhaltiges Wasser passierbar gewesen waren. Zu diesen Druckversuchen wurde auch älteres Splintholz herangezogen, während es sich bei den Transpirationsversuchen ausschließlich um jüngere Zweige handelte. Die Mehrzahl der Versuche wurde mit Bakterienaufschwemmungen vorgenommen, da sich herausstellte, daß Pilzsporen sich analog den Bakterien verhielten.

Für die Herstellung der Aufschwemmungen sowohl bei den Transpirations- wie auch bei den Druckversuchen wurden die Chromobakterien *Bact. prodigiosum* und *Bact. pyocyaneum* verwendet; sie sind in flüssigem wie auf festem Nährsubstrat leicht zu diagnostizieren. Sich hier solcher Bakterien zu bedienen, erschien deshalb in methodischer Hinsicht erforderlich, weil es sich bei der Versuchsanordnung — die im einzelnen bei den Versuchen selbst darzulegen sein wird — nicht immer ganz vermeiden ließ, daß die

Aufschwemmungen durch Berührung mit der Luft, mit den Versuchsobjekten usw. durch fremde Keime verunreinigt wurden. Für die Beurteilung der von den isolierten Holzspänen ausgehenden Bakterienentwicklung war es aber wesentlich, daß sich ein bestimmtes, leicht erkennbares Bakterium nachweisen ließ. Es gelang übrigens, solche Verunreinigungen nach einiger Übung auf ein Mindestmaß herabzusetzen. Stark verunreinigte Kulturen waren natürlich von der Beurteilung ausgeschlossen.

Als Aufschwemmung bezeichne ich Kulturen in verdünnter Bouillon, die eben deutlich getrübt waren. Die Herstellung von Pilzsporenaufschwemmung erforderte einige besondere Maßnahmen, über die eingangs der betr. Versuche berichtet werden soll. —

A. Aufsteigen von Bakterien mit dem Transpirationsstrom.

Die Versuchsanordnung war hier sehr einfach. Die frisch abgeschnittenen Zweige erhielten nach $^1/_2$—1stündigem Stehen in Wasser mit dem Rasiermesser unter Wasser eine neue Schnittfläche und wurden darauf in zylindrische, die Aufschwemmung enthaltende Gläschen gestellt. Sie tauchten 2—3 cm tief ein. Die Öffnung des Glases wurde mit Watte abgedichtet. Angaben über Zeit, aufgenommene Flüssigkeitsmengen u. a. finden sich bei den Einzelversuchen.

War anzunehmen, daß die Zweige keine Flüssigkeit mehr aufnahmen, so wurden sie entblättert, mit Wasser und Seife kräftig abgebürstet, darauf mit Alkohol und Äther abgerieben und über der Flamme des Bunsenbrenners flüchtig abgeflammt. Im Hansenschen Kasten entnahm ich dann mit sterilen Instrumenten dem Holzkörper in verschiedenen Höhen des Zweiges einige Späne und legte sie auf Platten mit Nähragar. Die Plattenkulturen fanden Aufstellung im Wärmezimmer (25° C), und vom 3.—5. Tage konnte nach Entstehen oder Ausbleiben von Kolonien des *B. prodigiosum* bezw. *pyocyaneum* festgestellt werden, in welcher Entfernung von der Schnittfläche aus das Holz bakterienhaltig war. Ich zog das feste Nährsubstrat deshalb vor, weil hier die Farbstoffbildung der Bakterien früher und sicherer erkannt wird als in flüssigen Nährmedien.

Ich hatte nun anfangs die Zweige nicht unter Wasser abgeschnitten, sondern nur — allerdings fast momentan — nach dem Durchschneiden in Wasser gestellt und dort die Schnittfläche er-

neuert. Es zeigte sich, daß die beim Abschneiden der Zweige eingedrungene Luft, die zum Ausgleich des bekanntlich meist in transpirierenden Zweigen herrschenden negativen Druckes die Leitungsbahnen injiziert, den Wasseraufstieg zu weitgehend störte, als daß Aussicht bestand, maximale Steighöhen der Bakterien zu erreichen. Ich trennte daher die Zweige später unter Wasser vom Stamm. Da nun bei den anderen Zweigen immerhin noch mäßige Flüssigkeitsaufnahme erfolgte und auch Bakterien mit aufgestiegen waren, brauchten die Resultate nicht ganz verworfen zu werden und wurden in die Tabellen mit aufgenommen. Es ist auf die unter Wasser abgeschnittenen Zweige in den Tabellen besonders hingewiesen. Um letztere möglichst einfach gestalten zu können, sei vorausbemerkt, daß die Zahlen in vertikaler Anordnung angeben, aus welcher Entfernung in Zentimetern von der Schnittfläche aus die Späne in den Kulturen stammten; dahinter ist durch + oder — vermerkt, ob sich Kolonien des *B. prodigiosum* bezw. *pyocyaneum* entwickelt hatten oder die Platten steril blieben. Die Angaben über aufgenommene Flüssigkeitsmengen sind nicht als Messungen zu verstehen, sondern wurden nur schätzungsweise gewonnen; sie mögen illustrieren, ob die Wasseraufnahme lebhaft oder vermindert vor sich gegangen war. —

1) *Evonymus japonicus.*

Ich begann im Winter mit Gewächshauspflanzen, die nicht besonders gut transpirierten. — Die Länge der 6 Zweige von *E.* schwankte zwischen 35—60 cm, ihr Alter betrug 3—5 Jahre. Sie standen 24 Stunden mit der Aufschwemmung in Berührung; Zweige 1—4 nahmen nur wenig auf, Zweige 5 und 6, unter Wasser abgeschnitten, nahmen je 15 ccm auf.

1		2		3		4		5		6	
5 cm	+	5 cm	+	8 cm	+	5 cm	+	6 cm	+	8 cm	+
15 „	—	12 „	+	19 „	—	11 „	—	12 „	—	11 „	—
25 „	—	20 „	—	—		—		21 „	—	27 „	—

Nur in einem Falle war ein Vordringen über 10 cm erfolgt. Die unter Wasser abgeschnittenen Zweige hatten bedeutend mehr Flüssigkeit aufgenommen; doch war über 10 cm hinaus das Holz steril.

Bedeutend weiteres Vordringen war bei den folgenden Versuchen mit jüngeren Zweigen der ebenfalls im Gewächshaus gezogenen Steineiche zu beobachten.

2) *Quercus Ilex.*

Drei Zweigen war eine Aufschwemmung von *Bact. prodigiosum*, zwei weiteren eine solche von *B. pyocyaneum* geboten; letztere waren unter Wasser abgeschnitten worden. — Länge der Zweige: 45—60 cm. Durchschnittl. Alter: 6 Jahre. Die Schnittflächen der Zweige 1—3 tauchten 24 Stunden in die Aufschwemmung ein und nahmen nur wenig auf; bei den Zweigen 4 und 5 betrug die Menge der aufgenommenen Flüssigkeit je 10 ccm.

1		2		3		4		5	
5 cm	+	5 cm	+	10 cm	+	8 cm	+	7 cm	+
12 „	+	20 „	+	25 „	+	18 „	+	17 „	+
30 „	+	30 „	—	30 „	+	28 „	—	27 „	+

In zwei Fällen waren die Bakterien hier noch bis 30 cm von der Schnittfläche entfernt nachzuweisen. Die an Luft und unter Wasser abgeschnittenen zeigen unterschiedliche Resultate nur bezüglich der aufgenommenen Flüssigkeitsmengen. Deutlich erkennbar war die Wirkung des Abschneidens unter Wasser bei Pappelzweigen. Diese und alle folgenden Versuche wurden im Sommer bei durchschnittlich guten Transpirationsbedingungen vorgenommen. Ich verzeichne zunächst die Ergebnisse mit Zweigen, deren Schnittflächen mit Luft in Berührung gewesen waren, unter 3a.

3) *Populus nigra.*

a) Sechs Zweige, meist einjährige Stammschößlinge. Länge 60 bis 90 cm. Sie nahmen während 24 Stunden je 8 ccm auf.

1		2		3		4		5		6	
6 cm	+	6 cm	+	5 cm	+	5 cm	+	4 cm	+	5 cm	+
18 „	+	12 „	+	10 „	+	10 „	—	12 „	—	14 „	+
28 „	—			21 „	+			22 „	—		

War es schwer, aus diesem Ergebnis die Grenze zu erkennen, bis zu der noch Bakterien in jungen Pappelzweigen mitgeführt

wurden, so ließen die Versuche mit 4 weiteren, unter Wasser vom Stamm getrennten Zweigen erkennen, daß diese Grenze ungefähr bei 20 cm zu setzen ist.

b) Vier Zweige, bis zu 70 cm lang. Sie nahmen während 20 Stunden je 10 ccm *Pyocyaneus*-Bouillon auf.

1		2		3		4	
5 cm	+	5 cm	+	5 cm	+	5 cm	+
12 „	+	14 „	+	12 „	+	12 „	+
20 „	+	22 „	—	20 „	+	25 „	—

Sämtlich unter Wasser abgeschnitten wurden fünf 2jährige Zweige von 4) *Salix caprea*. Sie transpirierten lebhaft und nahmen während 24 Stunden je 15—20 ccm Bakterienaufschwemmung auf; ihre Blätter waren während dieser Zeit völlig frisch geblieben.

1		2		3		4		5	
4 cm	+	5 cm	+	8 cm	+	7 cm	+	6 cm	+
9 „	+	16 „	+	20 „	—	16 „	+	14 „	+
20 „	—	23 „	—			27 „	—	22 „	—

Die Strecke, innerhalb der Bakterien im Holz vordringen können, hält sich hier offenbar unter 20 cm.

Das gleiche kann über die Ergebnisse mit vier 2jährigen Zweigen von *Corylus maxima* ausgesagt werden. Hier machte sich auch die Wirkung des Abschneidens unter Wasser wieder deutlich bemerkbar; die Zweige 1 und 2, deren Schnittflächen mit Luft in Berührung gewesen waren, nahmen 5 ccm, die Zweige 3 und 4, unter Wasser abgeschnitten, etwa 15 ccm auf (24 Stunden).

5) *Corylus maxima*.

1		2		3		4	
4 cm	+	3 cm	+	5 cm	+	5 cm	+
10 „	—	9 „	—	11 „	+	11 „	+
18 „	—	17 „	—	20 „	—	18 „	—

Auf verhältnismäßig kurze Strecken hin wurden die Bakterien auch in Ahornzweigen mitgeführt. Die Zweige waren 5 und 6 Jahre alt; während 24 Stunden nahmen 1—4 je 8 ccm, 5 und 6, unter Wasser abgeschnitten, je 15 ccm Aufschwemmung auf.

6) *Acer platanoides* (1, 2) und *Acer Lobeli* (3—6).

1		2		3		4		5		6	
6 cm	+	3 cm	—	3 cm	+	3 cm	+	5 cm	+	3 cm	+
12 „	—	13 „	—	10 „	+	7 „	+	12 „	+	17 „	+
22 „	—	25 „	—	17 „	—	17 „	—	22 „	—	28 „	—

Es dürfte hier die Grenze für das Vordringen von Bakterien mit dem Wasser etwa bei 20 cm Entfernung von der Schnittfläche aus zu setzen sein. —

Unter den Holzgewächsen ist die Eiche dafür bekannt, sehr lange Gefäße — bis zu einigen Metern — zu besitzen. Auch zeichnen sich die Gefäße, wie die mikroskopische Betrachtung eines Zweigquerschnittes ergibt, durch besondere Weite aus, namentlich im Vergleich zu denen von *Acer*, *Corylus* u. a. Es war zu vermuten, daß Bakterien hier besonders weit mit dem Wasser in den Leitungsbahnen vordringen würden.

Vier jüngere Zweige, bis zu 70 cm Länge und im Alter bis zu 6 Jahren, wurden unter Wasser um etwa 10 cm gekürzt und, mit neuen Schnittflächen versehen, in dünne Bakterienbouillon gestellt. Sie nahmen während 15 Stunden je 10—20 ccm Flüssigkeit auf. Ihre Blätter waren vollkommen turgeszent geblieben.

7) *Quercus pedunculata.*

1		2		3		4	
7 cm	+	4 cm	+	3 cm	+	4 cm	+
17 „	+	16 „	+	12 „	+	10 „	+
37 „	—	32 „	+[1]	24 „	+	18 „	+[1]

1) Die Späne entstammten einem Seitenzweig. Es ist damit gezeigt, daß die Bakterien auch mit in die Verzweigungen übergehen können.

8) Zweige von *Quercus pedunculata* wurden noch zu folgendem Versuch verwendet, durch den erwiesen wurde, daß Bakterien auch bei umgekehrt gerichtetem Transpirationsstrom in den Gefäßen mit fortbewegt werden.

Zwei 6jährige Zweige, 60 und 100 cm lang, mit je einem kräftigen Seitenzweig, wurden unter Wasser vom Stamme getrennt, sodann verschloß ich die Schnittflächen mit Baumwachs und schnitt die Seitenzweige ungefähr in ihrer halben Länge unter Wasser durch. Diese Schnittflächen tauchten dann in die Bakterienaufschwemmungen ein. Die Zweige nahmen während 22 Stunden je 20 ccm Flüssigkeit auf; ihre Blätter waren vollkommen frisch geblieben. Ich untersuchte darauf sowohl die Seitenzweige (s) wie auch die Hauptzweige (h) auf das Vorhandensein der Bakterien im Holz. Die Zahlen neben s geben die Entfernung in Zentimetern von der Schnittfläche des Seitenzweiges, die neben h die Entfernung von der ursprünglichen, verschlossenen Schnittfläche an.

(Quercus pedunculata.)

Zweig 1			Zweig 2		
s	13 cm	+	s	12 cm	+
	Gabelstelle	—		Gabelstelle	+
h	6 cm, 17 cm	—	h	22 cm, 50 cm	—

Der Transpirationsstrom hatte sich in entgegengesetzter Richtung im Seitenzweig bewegt und in einem Falle Bakterien bis zur Verzweigungsstelle mitgeführt; die Leitungsbahnen der Hauptzweige waren anscheinend frei von Bakterien geblieben.

Wie bei der Eiche, so erreichen auch bei den Lianen die Gefäße bedeutende Länge. Es war zu erwarten, daß auch hier die Bakterien auf größere Strecken hin mitgeführt werden würden, zumal z. B. *Aristolochia* auch über sehr weite Gefäße verfügt. Im folgenden sind die Ergebnisse mit einigen Vertretern der Lianen verzeichnet.

9) Versuche mit Lianen.

a) Ein 1jähriger Zweig von *Clematis vitalba*, 1 m lang, unter Wasser abgeschnitten und mit frischer Schnittfläche in dünne Aufschwemmung von *B. prodigiosum* gestellt, nahm in 10 Stunden 10 ccm auf. Nur die jüngsten Blätter waren etwas angewelkt. —

Die Bakterien wurden in 15 cm Höhe des Stengels nachgewiesen; Gewebepartikel aus 25, 40, 70 cm Höhe waren steril.

b) Ein 1jähriger Zweig von *Vitis Labrusca*, 1 m lang, unter gleichen Bedingungen behandelt, nahm in 20 Stunden 12 ccm Bakterienaufschwemmung auf. Die Blätter waren mit Ausnahme der jüng-ten turgeszent geblieben. In 10, 20 und 25 cm Höhe des Stengels wurden darauf die Bakterien vorgefunden; in 35, 50 und 60 cm Entfernung von der Schnittfläche waren die Leitungsbahnen steril.

c) *Aristolochia sipho.*

Ein gegabeltes, 3jähriges Zweigstück wurde unter Wasser abgeschnitten; der Hauptzweig (h) war 75 cm lang, der 70 cm lange Seitenzweig (s) setzte in 45 cm Entfernung von der Schnittfläche aus an. Der Zweig wurde nach 1stündigem Stehen in Wasser mit neuer Schnittfläche versehen, in Aufschwemmung von *B. prodigiosum* gestellt und nahm während 20 Stunden 25 ccm auf. Die Blätter hatten sich vollkommen frisch erhalten. In der Tabelle sind alle Entfernungen in Zentimetern von der Schnittfläche aus gemessen.

h	h	h	h	s	s	s
10 cm	25 cm	48 cm	60 cm	50 cm	65 cm	70 cm
+	+	+	−	+	+	−

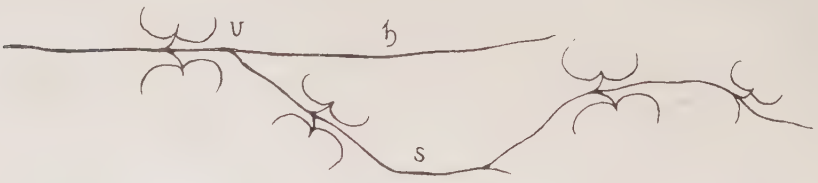

Fig. 1.

Die Untersuchung ergab, daß Bakterien im Hauptzweig bis über die Gabelstelle *v* hinaus (s. schemat. Skizze, Fig. 1) anzutreffen und eine beträchtliche Strecke auch im Seitenzweig vorgedrungen waren.

d) Ein gleicher Versuch wurde mit einem 1jährigen Zweig von *Aristolochia sipho* vorgenommen. Der Zweig nahm in 10 Stunden 8 ccm Aufschwemmung auf. In 16 cm Entfernung von der Schnittfläche aus waren die Bakterien im Zweig nachzuweisen, während

Gewebepartikel aus 30 und 40 cm Entfernung und aus einer Verzweigung sich als steril erwiesen. —

Es erhellt aus diesen Versuchen, daß bei den Lianen die Bakterien am weitesten im Leitungssystem mitgeführt wurden. Vielleicht hätten bei Verwendung älterer Zweige noch größere Strecken festgestellt werden können. —

Waren bisher ausschließlich Zweige von Laubhölzern zu den Versuchen ausgewählt worden, so erschien es erwünscht, auch für das Holz von Nadelhölzern festzustellen, ob Bakterien mit dem aufgenommenen Wasser vordringen können.

Ein negatives Resultat war hier vorauszusehen, da sich die Leitbahnen des Wassers bei den Koniferen aus relativ kurzen Tracheiden aufbauen, die nur für gelöste Stoffe durchlässig sind. Trotzdem führte ich einen Kontrollversuch aus. Zwei je $^1/_2$ m lange, an ihrem Grunde 1 cm starke Zweige von 10) *Taxus baccata* wurden unter Wasser vom Stamme getrennt, mit sauberer Schnittfläche versehen und in dünne Aufschwemmung von *B. prodigiosum* gestellt. Sie nahmen während 24 Stunden die gebotene Flüssigkeit — je 20 ccm — vollständig auf. Das Holz des einen Zweiges war in 2, 4 und 6 cm Entfernung von der Schnittfläche aus völlig steril; dem anderen Zweig entnahm ich Späne aus den Höhen 2, 10 und 20 cm. Nur die Späne aus 2 cm Höhe verursachten auf den Platten Entwicklung von *B. prodigiosum*. Diese Infektion stammte sicherlich von der Außenfläche des Zweiges, die mit der Aufschwemmung in Berührung gestanden hatte. Die Späne aus 10 und 20 cm Höhe waren steril. — Die in beträchtlicher Menge aufgenommene Bakterienbouillon war hier offenbar sehr nahe über der Schnittfläche vollkommen filtriert worden und gänzlich bakterienfrei im Holz weiter aufgestiegen. —

B. Bakterienaufschwemmung wird unter Druck durch Zweigstücke gepreßt.

Zur weiteren Entscheidung der Frage, ob mit dem Wasser auch Bakterien das Leitungssystem von Holzpflanzen zu passieren vermögen, versuchte ich unabhängig vom Transpirationsstrom die Aufschwemmung unter Druck durch jüngere, lebende Zweigstücke zu pressen.

Die Versuchsanordnung sei — unter Hinweis auf umstehende Skizze — kurz dargelegt: Auf den kurzen Schenkel *k* eines U-förmigen

Rohres von 18 mm lichter Weite und der Länge 24 cm des langen und 7 cm des kurzen Schenkels konnte ein durchbohrter Gummistopfen aufgesetzt werden, der das untere Ende des Versuchszweiges z druckdicht umschloß. Vor Einsetzen des Stopfens mit dem Zweig wurde das U-Rohr bis zu den Umbiegungsstellen der Schenkel mit Quecksilber gefüllt, darauf die Bakterienaufschwemmung in den kurzen Schenkel eingegossen, und dann der den Zweig tragende Stopfen fest eingefügt. Der lange Schenkel l konnte darauf zwecks Druckwirkung auf die Aufschwemmung beliebig hoch mit Quecksilber gefüllt werden. Auf das obere Ende des Zweigstückes wurde mittels kurzen Gummischlauches ein sich verjüngendes Glasröhrchen g aufgeschoben und die Stelle, wo das Schlauchstück das Zweigende umschloß, mit festem Drahtverband versehen. Das Glasröhrchen wurde zuletzt über dem Bunsenbrenner umgebogen, bis es die in der Figur veranschaulichte Neigung einnahm. Das Ende des Röhrchens ragte durch einen Wattepfropfen, der zugleich den nötigen Halt verlieh, in ein kleines Reagenzrohr r, das zur Aufnahme der das Zweigstück passierenden Flüssigkeit diente.

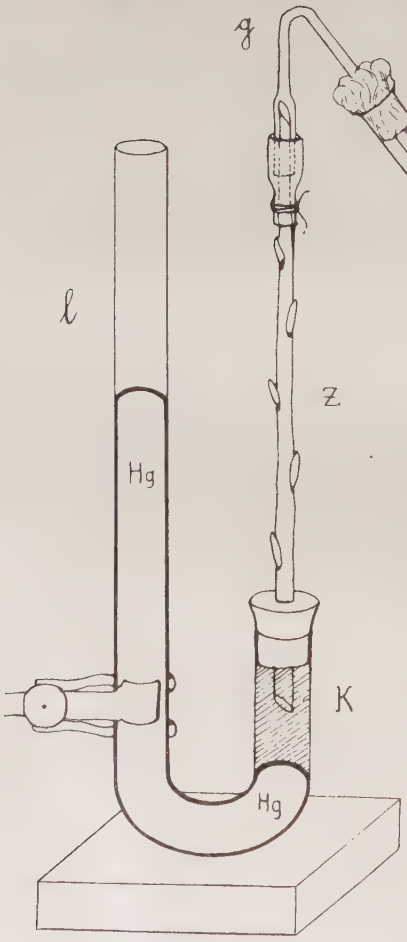

Fig. 2 ($^1/_3$ natürl. Größe).

U-Rohr und Gummistopfen erfuhren vor jedem Versuch eine sorgfältige Reinigung mit Alkohol und sterilisiertem Wasser, während das Glasröhrchen und das Aufnahmegefäß in der üblichen Weise im Dampfraum sterilisiert wurden. Das Quecksilber wurde nach jedesmaligem Gebrauch mit Alkohol (60 %) und Wasser gut ausgewaschen. Ich überzeugte mich, daß die Berührung der Auf-

schwemmung mit dem Quecksilber keinen schädlichen Einfluß auf die Bakterien hatte. Das Zweigstück selbst wurde vor Einfügen in den Apparat besonders an seinen Enden mit Alkohol und Äther abgerieben und mit schräg verlaufenden Schnittflächen versehen.

Die Untersuchung der durch das Zweigstück filtrierten Flüssigkeit auf das Vorhandensein der Kontrollbakterien *(B. prodigiosum*, zuweilen auch *B. pyocyaneum)* geschah auf die Weise, daß ich entweder das vorgeschaltete Reagenzgläschen nur als Auffangegefäß benutzte und aus ihm dann auf geeignetes Nährsubstrat abimpfte, oder daß ich die austretende Flüssigkeit in sterilisierte, mit etwas Nährbouillon gefüllte Vorlagegläser tropfen ließ, in denen dann die Bakterien des Filtrats zur Entwicklung gelangen konnten. Zur größeren Sicherheit konnten diese Vorlagen während eines Versuches einige Male gewechselt werden.

Selbstverständlich sind die Versuche ausgeschaltet, über die wegen der nicht immer zu vermeidenden Fremdinfektion der Aufschwemmung oder des Filtrats kein eindeutiges Urteil möglich war.

In der eben beschriebenen Weise führte ich zuerst eine Reihe von Versuchen mit jüngeren Zweigstücken von *Corylus* und *Populus* aus. Die Versuchsdaten und Resultate sind in Tabellen niedergelegt. Für die aus dem oberen Ende austretende Flüssigkeit sei der Ausdruck „Filtrat" verwendet. Die Filtratmengen sind auf ganze Zahlen abgerundet. Die „Dichte" der Bakterien in der Ausgangsaufschwemmung war so, daß die Flüssigkeit deutlich getrübt erschien. In der letzten Vertikalreihe der Tabellen ist durch + oder — angedeutet, ob das Filtrat bakterienhaltig bezw. steril war.

1. Versuche mit Zweigstücken von *Corylus maxima.*

(Es handelte sich fast durchweg um Stammschößlinge.)

Versuch Nr.	Zweigstück		Druck mm Hg	Dauer des Versuchs	Filtrat	
	Länge	Alter			Menge	*Bact. prod.*: + steril: —
1	28 cm	1 Jahr	200	6 Stunden	3 ccm	—
2	25 „	2 Jahre	200	5 „	3 „	—
3	8 „	1 Jahr	200	6 „	5 „	+
4	9 „	2 Jahre	100	4 „	5 „	+
5	27 „	1 Jahr	200	10 „	2 „	—
6	29 „	1 „	200	10 „	2 „	—

Aus dem Holzkörper der Zweige 5 und 6 wurden auf die schon früher geübte Methode einzelne Späne aus verschiedenen Entfernungen von der Schnittfläche entnommen und auf Nähragarplatten gebracht. Es ergab sich, daß die Bakterien bis zu 6 und 9 cm mitgeführt worden waren; die Späne aus 15 und 20 cm Höhe erwiesen sich als steril. Wir sehen aus der Tabelle, daß nur bei einer gewissen Länge der Zweigstücke die Bakterien die Leitungsbahnen in voller Ausdehnung mit passiert hätten. Waren die Zweige länger als 8 und 9 cm, so zeigte sich das Filtrat vollkommen bakterienfrei. Wir dürfen annehmen, daß in diesen Fällen unperforierte Querwände in die Leitungsbahnen eingeschaltet waren, die nur die Flüssigkeit hindurchließen, solide Partikel aber — so auch Bakterien — zurückhielten. Jedoch auch auf dem Wege durch die kurzen Zweigstücke hatte eine Filtration der Bakterienaufschwemmung stattgefunden; während letztere vor dem Passieren des Zweiges deutlich getrübt erschien, sammelte sich dann in dem Auffangeglas eine völlig klare Flüssigkeit an, und erst durch Abimpfen überzeugte ich mich, daß Bakterien vorhanden waren. Die Ursachen für diese Erscheinung werde ich später darzulegen versuchen (vgl. die ergänzende Betrachtung am Schluß dieses Abschnittes, S. 50). Betrachten wir das Ergebnis mit *Corylus*-Zweigen bei den Transpirationsversuchen — das Holz über 11 cm von der Schnittfläche aus war steril —, so kann zunächst folgendes festgestellt werden: es wird derselbe Erfolg erzielt, gleichviel ob einerseits die Aufnahme der bakterienhaltigen Flüssigkeit durch die Kräfte erfolgte, die den Transpirationsstrom aufwärts leiten, oder andererseits die Flüssigkeit gewaltsam durch das Holz getrieben wurde: oberhalb bestimmter Strecken, die den ununterbrochenen Gefäßstrecken entsprechen dürften, war die Flüssigkeit völlig von den Bakterien befreit. — Etwas präziser noch treten diese Verhältnisse bei den folgenden Versuchen mit Pappelzweigen hervor.

2. Versuche mit Zweigstücken von *Populus nigra*.

Versuch Nr.	Zweigstück		Druck mm Hg	Dauer des Versuchs	Filtrat	
	Länge	Alter			Menge	*Bact. prod.*: + steril: —
1	28 cm	1 Jahr	200	8 Stunden	8 ccm	—
2	27 „	1 „	200	10 „	8 „	—
3	25 „	1 „	200	8 „	5 „	—

(Fortsetzung von 2)

Versuch Nr.	Zweigstück		Druck mm Hg	Dauer des Versuchs	Filtrat	
	Länge	Alter			Menge	mit Bakt.: + steril: —
4	20 cm	3 Jahre	150	1 Stunde	2 ccm	—
5	18 „	3 „	150	1 „	3 „	+
6	16 „	3 „	100	2 Stunden	6 „	+
7	16 „	4 „	100	2 „	6 „	+
8	14 „	3 „	150	1 Stunde	3 „	+
9	10 „	2 „	150	1 „	2 „	+
10	8 „	1 Jahr	200	6 Stunden	7 „	+

Anmerkung: In den Versuchen 6 und 7 gelangte *Bact. fluorescens* in Aufschwemmung zur Verwendung, in allen übrigen *Bact. prodigiosum*.

Bei diesen Versuchen erwies sich das Filtrat als steril, sobald die Zweigstücke die Länge von 20 cm überschritten. Wir können daher annehmen, daß in jüngeren Pappelzweigen ununterbrochene Gefäßstrecken bis zu ungefähr 20 cm Länge vorhanden sind. Bei den Transpirationsversuchen mit Pappelzweigen war ermittelt worden (vgl. S. 36), daß Bakterien bis zu 20 cm Entfernung von der Schnittfläche aus mitgeführt wurden. Beide Versuchsmethoden haben hier zu ziemlich übereinstimmenden Resultaten geführt. Um festzustellen, von wo ab bei den Druckversuchen die Leitungsbahnen sterile Flüssigkeit führten, entnahm ich den Zweigen 1 und 2 nach dem Versuch einzelne Späne und überführte sie auf Agarplatten; in Zweig 1 war das Holz in 5 cm Höhe bakterienhaltig, in 17 cm Höhe steril, in Zweig 2 konnten die Bakterien in 4 und 16 cm Höhe nachgewiesen werden, Späne aus 22 cm Entfernung von der unteren Schnittfläche waren steril. — Die Angaben über die Filtratmengen lassen keine bestimmten Beziehungen zur Versuchsdauer, zu Alter und Länge der Zweige erkennen. Sicherlich handelt es sich hier um individuelle Schwankungen im Verhalten der verschiedenen Zweige.

Ich berichte im Anschluß noch über einige Erfahrungen mit Eichenholz, das sich durch lange und weite Gefäße auszeichnet.

3. Versuche mit Zweigen von *Quercus pedunculata* v. *fastigiata*.

a) Stark getrübte *Prodigiosus*-Bouillon wurde unter 150 mm Quecksilberdruck durch zwei 3jährige Zweigstücke in Länge von

9 und 28 cm gepreßt; durch ersteres tropfte innerhalb 10 Minuten eine erhebliche Menge deutlich trüber Flüssigkeit, durch letzteres filtrierten in 5 Stunden ca. 8 ccm klare Flüssigkeit. Durch Abimpfen überzeugte ich mich, daß die Bakterien in beiden Fällen die Zweigstücke in ganzer Länge passiert hatten.

b) Durch ein 6jähriges Zweigstück von 50 cm Länge wurde unter 200 mm Druck mäßig trübe Bakterienbouillon gepreßt. Nach 2 Stunden waren ca. 10 ccm deutlich trüber Flüssigkeit aus dem Zweigende getropft, die Kontrollbakterien in großen Mengen enthaltend.

Wir schließen aus den Beobachtungen, daß hier der Bakterienflüssigkeit ununterbrochene Gefäßstrecken zur Verfügung standen. Im Gegensatz zu den analogen Versuchen mit Pappelzweigen, bei denen auch aus kurzen Zweigstücken ein klares Filtrat austrat, war hier ein viel geringerer Widerstand auf dem Weg durch die Gefäße zu überwinden, was offenbar deren größerem Durchmesser zuzuschreiben sein wird. — Wahrscheinlich hätten, um nicht nur ein klares, sondern auch bakterienfreies Filtrat zu erzielen, bedeutend längere Zweige verwendet werden müssen, da die Länge der Gefäße bei der Eiche mehrere Meter erreichen kann (Strasburger, 39, S. 54). —

Bisher war bei unseren Versuchen nur jüngeres Splintholz berücksichtigt worden. Es fragt sich nun, ob auch die Leitbahnen älterer Jahresringe, sofern sie überhaupt noch funktionsfähig sind, bakterienhaltiges Wasser passieren lassen. Einige Versuche geben darüber Aufschluß.

4. Die Leitbahnen älterer Jahresringe des Eichenholzes *(Quercus pedunculata* v. *fastigiata)* als Wege der Bakterienaufschwemmung.

Die Versuchsanordnung war hier im Prinzip die gleiche wie bei den Druckversuchen; um aber der Flüssigkeit den Weg durch bestimmte Jahresringzonen vorzuschreiben, nahm der Gummistopfen einen nur über einige Jahresringe sich erstreckenden Zapfen *z* der Holzsäule auf, wie durch nebenstehende Skizze (Fig. 3) veranschaulicht wird. Das obere Ende der Holzsäule wurde so zugeschnitten, daß auf jeden Fall der Querschnitt die Endigungen der im unteren Zapfen umschlossenen Gefäßbahnen in sich faßte; es erhielt eine saubere Schnittfläche und wurde nach flüchtigem Abflammen mit einem Gläschen überdeckt. Zum Nachweis des

Vorhandenseins der Kontrollbakterien in der austretenden Flüssigkeit wurde einfach von der oberen Schnittfläche auf verschiedenes Nährsubstrat abgeimpft. Als Kontrollbakterium diente *B. pyocyaneum* in mäßig trüber Bouillon. Die Länge der Holzsäulen betrug in allen Fällen 20 cm.

a) Der Zapfen umfaßt die drei innersten Jahresringe eines 7jährigen Zweiges. Unter Wirkung von 40 mm Druck tritt aus der oberen Schnittfläche reichlich bakterienhaltige Flüssigkeit aus.

b) Es handelt sich um ein 24 Jahre altes Aststück mit 16 Jahresringen Splintholz. Der Bakterienflüssigkeit war der Weg durch den 3., 4. und 5. Splintring — vom Kern aus gerechnet — vorgeschrieben. Unter dem Druck von 150 mm Hg tritt am oberen Ende des Zapfens sofort eine reichliche Menge Flüssigkeit aus, in der *B. pyocyaneum* nachgewiesen wird.

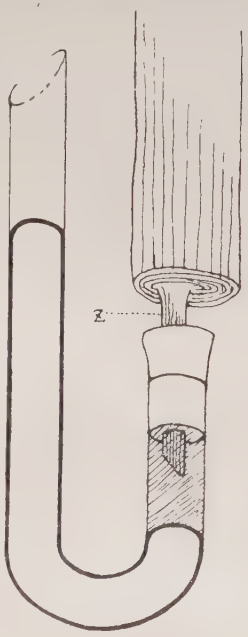

Fig. 3.

c) Die Holzsäule entstammt demselben Aststück wie bei b); der Zapfen umfaßt jetzt die letzten 4 Splintringe vor dem Kernholz sowie ein schmales Kernsegment. Unter 100 mm Druck tritt sofort Flüssigkeit am oberen Ende der Holzsäule aus, jedoch nur etwa $^1/_2$ ccm. Darauf schien die Durchlässigkeit des Holzes erschöpft zu sein; das Quecksilberniveau blieb 3 Stunden in gleicher Höhe. Abimpfen von der filtrierten Flüssigkeit ergab Anwesenheit des *Bact. pyocyaneum.* —

d) Die Holzsäule besteht nur aus Kernholz. Trotz eines Druckes von 200 mm Hg auf die Bakterienaufschwemmung erfolgt keine Filtration; der Stand des Quecksilbers im U-Rohr bleibt 24 Stunden unverändert. Das Holz wird nach Abflammen und sorgfältiger Reinigung des mit der Bakterienaufschwemmung in Berührung gewesenen Teiles im Hansenschen Kasten unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln gespalten und eine Reihe von Spänen aus verschiedener Entfernung von der unteren Schnittfläche (0,5 cm, 1 cm, 10 cm) auf Agarplatten überführt. Die Platten blieben steril. —

Aus diesen Ergebnissen ist zu ersehen, daß die Leitbahnen älteren Splintholzes für Bakterienaufschwemmung noch passierbar waren, doch erschien die Durchlässigkeit in den ältesten Zonen

des Splintes erheblich vermindert. Das Kernholz hatte sich als gänzlich unwegsam erwiesen. —

C. Versuche mit Pilzsporen.

(Aspergillus niger.)

Hatte sich bis jetzt bei unserer Frage das Hauptinteresse dem Verhalten von Bakterien zugewandt, so gestatten die nun folgenden Versuche festzustellen, daß Pilzsporen sich im wesentlichen wie die Bakterien verhalten; auch sie können in den Gefäßen der Holzpflanzen mit dem aufgenommenen Wasser auf gewisse Strecken hin mitgeführt werden. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei der Aufnahme von Bakterienbouillon durch transpirierende Zweige; nur mußte jetzt bei Herstellen einer Pilzsporenaufschwemmung darauf geachtet werden, daß in der Flüssigkeit möglichst viele Einzelsporen vorhanden waren, damit nicht durch eine große Zahl von Sporenhäufchen die Gefäßöffnungen der Schnittfläche zu früh verstopft wurden. Es wurde daher in einem Erlenmeyerkolben Leitungswasser zwecks Entlüftung gekocht und in das erkaltete Wasser wurden mehrere Ösen Sporen von *Aspergillus niger* ausgesät. Nach kräftigem Schütteln filtrierte ich das sporenhaltige Wasser durch einen Wattebausch; nach weiterem Entlüften unter der Saugluftpumpe zeigte die mikroskopische Betrachtung, daß in der Aufschwemmung neben einzelnen Sporenhäufchen sehr viele Einzelsporen sich vorfanden.

a) Zu einem 1. Versuch verwandte ich 3 Zweige von *Populus nigra* von je 1 m Länge und im Alter von 4 – 5 Jahren. Sie wurden unter Wasser abgeschnitten, erhielten unter Wasser mit dem Rasiermesser frische, schräg verlaufende Schnittflächen und wurden in Gläschen mit Sporenaufschwemmung gestellt. Sie transpirierten gut und hatten nach 16 Stunden die gesamte Flüssigkeit aufgenommen (je 15 ccm). Die Schnittflächen zeigten schwärzliche Färbung der äußeren Jahresringe. Nach Entblättern und äußerlicher Reinigung mit Benzin und Alkohol und nach Abflammen der Zweige entnahm ich dem Holzkörper Späne aus verschiedenen Entfernungen von der Schnittfläche und brachte sie in Gläschen mit sterilisierter Pilznährlösung:

Wasser . . .	200,00 g,
KH_2PO_4 . . .	0,50 g,
$MgSO_4$ . . .	0,25 g,
NH_4NO_3 . . .	1,00 g,
Zucker . . .	10,00 g.

Das Ergebnis ist in folgender Tabelle niedergelegt; die Zahlen in vertikaler Anordnung bezeichnen in Zentimetern die Entfernung der Schnittstellen von der Schnittfläche, durch die Anzahl der +-Zeichen soll die Intensität der Mycelentwicklung ungefähr angedeutet sein.

(Populus nigra.)

Zweig 1		Zweig 2		Zweig 3	
7 cm	+ + +	5 cm	+ + +	5 cm	+ +
9 „	+ +	9 „	+ + +	11 „	+ + +
17 „	+	15 „	+	17 „	+
22 „	+			23 „	−
25 „	−				

Die Sporen wurden hier — gleich den Bakterien in früheren Versuchen — bis zu etwa 20 cm in den Zweigen mitgeführt. Es muß bemerkt werden, daß hier einige Kulturen sich als mit Bakterien verunreinigt erwiesen. Im Gegensatz zu früheren Erfahrungen mit Mycelien holzbewohnender Pilze konnte ich beobachten, daß das *Aspergillus*-Mycel sich neben den Bakterien behauptete und ihre Entwicklung zurückdrängte. —

b) Ein zweiter Versuch wurde mit Zweigen von *Quercus pedunculata* vorgenommen, deren Trennung vom Aste ebenfalls unter Wasser erfolgte; ihre Länge betrug 1 m, ihr Durchmesser am Grunde 1 cm. Sie nahmen in 24 Stunden je 20 ccm Sporenaufschwemmung auf und wurden darauf in derselben Weise untersucht wie im Versuch unter a) dargetan ist.

Ergebnis: *(Quercus pedunculata.)*

Zweig 1		Zweig 2		Zweig 3	
6 cm	+ +	10 cm	+ + +	8 cm	−
17 „	+	20 „	+ +	18 „	+
28 „	+ + +	30 „	−	30 „	+
42 „	−	40 „	−	38 „	+ +
				50 „	−

Es fand hier offenbar ein weiteres Vordringen des sporenhaltigen Wassers statt als in Pappelzweigen. Somit standen der Flüssigkeit längere nicht unterbrochene Gefäßstrecken zur Verfügung, was schon bei analogen Versuchen mit Bakterien festgestellt

werden konnte. — Auch hier waren die meisten Kulturen, in denen Mycelien entstanden, mit Bakterien verunreinigt. Das Mycel behauptete sich jedoch mit Erfolg gegenüber der Bakterienentwicklung.

c) Durch diesen letzten Versuch soll gezeigt werden, daß auch in älteren Jahresringen des Splintholzes Pilzsporen mit dem Wasser verschleppt werden können. Eine 20 cm lange Holzsäule aus einem 24 Jahre alten Eichenast wurde dem auf S. 47 beschriebenen Apparat eingefügt. Die Sporenaufschwemmung wurde unter 100 mm Quecksilberdruck durch 5 auf den Kern folgende Splintringe gepreßt. Es trat sofort Flüssigkeit aus dem oberen Ende der Säule hervor; nach einiger Zeit ließ die Filtration nach. Daß Sporen durch das Holz mitgeführt worden waren, konnte schon durch Betrachten der oberen Schnittfläche mit der Lupe festgestellt werden; es wurde außerdem von der ausgetretenen Flüssigkeit in mehrere Gläschen mit Nährlösung abgeimpft, in denen bald lebhafte Entwicklung von *Aspergillus niger* einsetzte.

Ergänzende Betrachtung.

Die voraufgehend beschriebenen Versuche haben zu dem Ergebnis geführt, daß Bakterien und Pilzsporen mit dem durch eine Schnittfläche aufgenommenen Wasser in das Holz eindringen und auf gewisse Strecken hin mitgeführt werden. Die Aufnahme der die Mikroorganismen enthaltenden Flüssigkeit geschah dabei einerseits unter der Wirkung der Kräfte, die den Transpirationsstrom in abgeschnittenen Zweigen aufwärts leiten, andererseits unter künstlichen Bedingungen, indem die Flüssigkeit unter Druck durch die Leitungsbahnen gepreßt wurde. Wenn auch nicht im einzelnen das genaue Maß der Strecken, innerhalb welcher die Organismen im Holz vorzufinden waren, ermittelt wurde, so zeigte sich doch, daß bezüglich dieses Streckenmaßes sich die Holzarten verschieden verhalten, innerhalb einer Holzart aber ziemlich konstante Werte erreicht wurden.

Dieses Ergebnis bezieht sich im wesentlichen auf jüngere Zweige; sofern älteres Splintholz noch wegsame Leitbahnen aufwies, wie bei der Eiche, war es auch für Bakterien- bezw. Pilzsporenaufschwemmung durchlässig. Das ältere Splintholz wird in diesem Falle noch als lebend anzusehen sein; nach Fritzsche (14, S. 24) tritt bei *Quercus pedunculata* die Kernholzbildung und damit das Außerfunktionsetzen der Leitbahnen durch Verstopfungen usw. mit Beginn des Absterbens der lebenden Elemente ein. Da bei den „Splint-

bäumen“ (z. B. Buche, Birke) nach Hartig (17, S. 222) das älteste Holz unter Umständen noch die Leitung des Wassers übernehmen kann, so dürfte es auch für bakterienhaltige Flüssigkeit auf gewisse Strecken hin durchlässig sein. — Das Kernholz der Eiche erwies sich als gänzlich verschlossen (vgl. S. 47). Alles echte Kernholz unserer Holzgewächse dürfte sich ebenso verhalten. Ferner wird die bei einem Versuch mit *Taxus*-Zweigen (S. 41) konstatierte Tatsache, daß Bakterien durch das aufgenommene Wasser nicht mitgeführt wurden, für alle Koniferen verallgemeinert werden können, da hier durchgängig für die Wege des aufsteigenden Wassers nur das System der kurzen Tracheiden in Betracht kommt, deren Bau nur gelösten Stoffen den Durchtritt gestattet.

Die Ergebnisse mit den Druckversuchen veranlaßten nun auf das Vorhandensein von Querwänden in den Leitbahnen zu schließen, die nur Flüssigkeit passieren ließen, Bakterien aber zurückhielten; aus längeren Zweigen filtrierte vollkommen sterile Flüssigkeit. Unperforierte, nur mit Hoftüpfeln versehene Querwände sind aber maßgebend für die Länge der Gefäße (vgl. Strasburger, 37, S. 87). Es ergibt sich somit im Hinblick auf unsere sämtlichen Versuche, daß ein Vordringen von Bakterien und Pilzsporen mit dem Wasser in das Holz im besten Falle in dem Maße erfolgen kann, das der Länge der von der Schnittfläche aus im Zweig verlaufenden Gefäße entspricht. Es erscheint angebracht, die Ermittelungen über Längenausdehnung der Gefäße kurz zu überblicken und sie mit einigen Ergebnissen aus unsern Versuchen zu vergleichen.

Über die Länge der Gefäße ist bekannt, daß sie in den Fällen, wo neben den Gefäßen noch andere Elemente des Holzkörpers mit an der Leitung des Wassers beteiligt sind, sie bedeutende Maße aufweisen kann (Strasburger, 39, S. 54); so bei der Eiche, bei *Wistaria*, bei *Aristolochia*. In diesen Fällen pflegen sich die Gefäße auch durch bedeutende Weite auszuzeichnen, die im Maximum bei den Lianen erreicht ist. Strasburger stellte die Länge der Gefäße dadurch fest, daß er Quecksilber durch Zweigstücke von wechselnder Länge preßte und beobachtete, bei welcher Länge das Quecksilber am anderen Ende austrat (38, S. 510—512). Eingehende Untersuchungen über Gefäßlängen sind auch von Adler (1) ausgeführt worden, dessen Methode (Injektion der Gefäße mit Liquor ferri oxychlorati, das als Kolloid die Querwände nicht passieren kann, Nachsaugen von Ammoniaklösung, Eisenfällung in den Gefäßen) eine genaue Feststellung gestattet.

Ist so ermittelt worden, daß im Splint der Eiche Gefäße bis zu 2 m Länge nicht selten sind und sie bei *Aristolochia* die Länge von 5 m erreichen können, so konnten wir demgemäß bei Transpirationsversuchen mit Zweigen der genannten Holzarten ein relativ weites Vordringen von Bakterien, bei der Eiche auch von Pilzsporen, beobachten, während z. B. bei Pappel und Weide die Grenze des Vordringens etwa bei 20 cm zu setzen war. Nach Strasburger (39, S. 54) schwankt die Länge der Gefäße in jüngeren Pappelzweigen und in Zweigen der Weide zwischen 10 und 20 cm. Wie nun Adler (1, S. 25) feststellte, bestehen Differenzierungen in den Gefäßlängen insofern, als allgemein in jüngeren Zweigen die Maximallängen der Gefäße nicht erreicht werden. Bei unseren Versuchen handelte es sich nun fast nur um jüngere Zweige, und es war nicht bekannt, welche Gefäßlängen in jedem Einzelfalle zur Verfügung standen. Die eben angeführten Beispiele mögen daher genügen, die Beziehungen von bekannten Gefäßlängen zu den Resultaten unserer Versuche zu charakterisieren. —

Es bleibt noch übrig, einiger Erscheinungen bei den Versuchen selbst zu gedenken. Auf den Einfluß des Abschneidens der Zweige an der Luft wurde schon in der Darstellung der Transpirationsversuche hingewiesen. Die unregelmäßigen Resultate mit so behandelten Zweigen treten besonders in den Versuchen 5) und 6) (S. 37, 38) hervor. Es liegt auf der Hand, daß selbst geringe, beim Ausgleich des negativen Druckes eingedrungene Luftmengen auch bei weiterer Flüssigkeitsaufnahme das Mitführen von Bakterien stören können, indem möglicherweise ein frühes Absetzen der Bakterien an den Gefäßen erfolgt, wenn wir uns vorstellen, daß das nachdringende Wasser die Luftblasen umgehen muß.

Aber auch in den unter Wasser abgeschnittenen Zweigen befindet sich der Transpirationsstrom nicht unter den Bedingungen, wie sie im intakten Gefäßsystem herrschen; in den meisten Fällen erfolgt bei solchen Zweigen der Eintritt von Flüssigkeit unter der Wirkung des oft vorhandenen negativen Druckes, der sich nur langsam ausgleicht und selbst nach längerem Stehenlassen der Zweige in Wasser sich bei Herstellen einer neuen Schnittfläche geltend machen kann (Strasburger, 39, S. 61). Es dürfte sich daher in vielen unserer Versuche um ein Injizieren der Zweige mit Bakterienaufschwemmung gehandelt haben. Doch erscheint es für unsere Beobachtungen gleichgültig, mittels welcher Kräfte das Einsaugen der Flüssigkeit erfolgte.

In vielen Fällen konnte ich nun beobachten, daß auf Agarplatten mit Holzspänen aus geringerer Entfernung von der Schnittfläche der Zweige auffallend stärkere Bakterienentwicklung einsetzte als auf den Platten, die mit Spänen aus höheren Stellen des Zweiges belegt waren; hier konnte manchmal die Entwicklung von Einzelkulturen des *Bact. prodigiosum* verfolgt werden. Daraus kann geschlossen werden, daß auf dem Wege durch die Gefäßstrecken eine allmähliche Verringerung des Bakteriengehalts der Flüssigkeit erfolgte, der Art, daß ein Sedimentieren der Bakterien an den Gefäßwänden stattfand. Wir würden zur Erklärung dieses Vorganges zu berücksichtigen haben, daß die Gefäße nicht immer nur mit Wasser gefüllt sind, sondern, zumal bei lebhafter Transpiration, eine durch Luftbläschen unterbrochene Wassersäule enthalten (Jaminsche Kette). Nehmen wir nun mit Strasburger (39, S. 46) an, daß diese Kette als solche in Ruhe verharrt und das Wasser somit den Luftbläschen seitlich ausweicht, so dürfte sich bakterienhaltiges Wasser dabei eines Teiles der Bakterien dadurch entledigen, daß letztere an den Gefäßwänden haften bleiben. Dieser Vorgang kann dann noch durch die mannigfachen Wandskulpturen der Gefäße unterstützt gedacht werden. So dürften z. B. auch die verengten Stellen, die überall dort im Gefäßrohr zu finden sind, wo Querwände resorbiert wurden, zu einem allmählichen Sedimentieren der Bakterien beitragen.

Daß jedenfalls ein Verringern des Bakteriengehalts der Aufschwemmung schon auf dem Wege durch nicht unterbrochene Gefäßstrecken erfolgte, ist bei den Druckversuchen in den Fällen dargetan, wo die Länge der Zweigstücke sich unterhalb der Gefäßlänge hielt, Bakterien also im Filtrat vorhanden waren, dieses aber sich als klare Flüssigkeit ansammelte (vgl. S. 44). —

Hatten die Versuche vorliegenden Abschnittes gezeigt, daß ein Mitführen von Bakterien durch den aufsteigenden Wasserstrom in der Pflanze möglich ist, so liegt es nahe, nach gewissen Pflanzenkrankheiten hinüberzublicken, bei denen schädigende Bakterien hauptsächlich in den Gefäßen ihren Sitz haben. Es erscheint fraglich, ob hier eine wesentliche Verschleppung der Parasiten mit dem Transpirationsstrom erfolgen kann. Wenn bei einer Erkrankung der Pflanze die Bakterien sich einmal bis zu den Gefäßen hindurchgearbeitet haben, dürften letztere kaum noch funktionstüchtig sein, und wenn beobachtet worden ist, daß bei gewissen Krankheiten die Bakterien sich mit Vorliebe auf dem Weg durch die Gefäße

ausbreiten, so wird diese Ausbreitung durch Massenwirkung erfolgen, wie auch sonst auf einem geeigneten Nährsubstrat Bakterienkolonien rasch an Ausdehnung zunehmen. — Die von Smith unter den Gefäßerkrankungen genau beschriebene Kürbis-Welkekrankheit (34, S. 209 ff.) zeigt, daß die parasitischen Bakterien von einer Blattinfektion aus in den Gefäßen fortwandern können, ihren Weg also gegen den Saftstrom nehmen. Außerdem erfolgt die Verbreitung von anderen Infektionsstellen aus nicht nur vornehmlich in Richtung des Transpirationsstromes, sondern auch allseitig. Ferner beobachtete Brenner beim Studium der Schwarzfäule des Kohls (3, S. 730), bei der die Bakterien ebenfalls vorwiegend in den Gefäßen hausen, daß die Krankheit bei Infektion des Stengels wohl rascher zentrifugal — d. i. in Richtung des Transpirationsstromes — fortschreitet als umgekehrt, durch den Transpirationsstrom allein aber die Bakterien keine große Strecke weit befördert zu werden scheinen. —

III.

Über Lebensdauer und Verhalten von Bakterien im lebenden Pflanzengewebe.

Einleitende Literaturübersicht.

Zur Klarlegung des Verhaltens der Bakterien gegenüber dem Gewebe der höheren Pflanzen und besonders im Anschluß an die Erkenntnis, daß gewisse Bakterien aggressiv gegen lebende Pflanzen auftreten, scheint es von Bedeutung, zu erfahren, ob Bakterien im allgemeinen das lebende Pflanzengewebe einen geeigneten Aufenthaltsort zu bieten vermag.

Weiter zurückliegender Forschung in diesen Fragen lag es nahe, aus Vergleichen des tierischen Körpers mit den Eigenschaften des Zellgewebes der Pflanzen die Existenzmöglichkeit von Bakterien und vor allem von tierpathogenen Bakterien von vornherein zu erörtern. Der saure Zellsaft der Pflanzen, die Eigenschaften der Zellwand, die relativ niedrige Temperatur des Pflanzeninneren ließen die Aussicht geringer erscheinen, daß Bakterien in den Pflanzen ihre Lebens- und Entwicklungsbedingungen antreffen würden. Auch daß Pflanzenkrankheiten rein bakterieller Natur in größerem Umfange auftauchen könnten, mußte aus ähnlichen Erwägungen bezweifelt werden (vgl. Hartig, 18, S. 36; A. Fischer, 13, S. 274 ff.).

Spätere Untersuchungen jedoch und die ständig fortschreitende Entdeckung neuer pflanzlicher Bakteriosen, die zugleich besondere Fähigkeiten der angreifenden Bakterien erkennen ließen, lehrten, daß kein generelles Urteil darüber gefällt werden kann, ob der lebende pflanzliche Organismus völlig resistent gegenüber Bakterien ist oder nicht. Es erwies sich, daß die Zellwand nicht in allen Fällen ein unüberwindliches Hindernis darstellt, daß gewisse Bakterien auch unverletztes Gewebe angreifen, daß die chemisch-physiologischen Eigenschaften des Zellinhaltes von der Gruppe der phytopathogenen Bakterien überwunden werden können.

Die Untersuchungen darüber, ob Bakterien irgendwelcher Art — Saprophyten wie tierpathogene — in der Pflanze zu existieren vermögen, gingen teils von hygienischen Erwägungen aus, teils wurden neben der Feststellung der Lebensdauer Fragen der Resistenz, Immunität u. a. erörtert.

Injektionsversuche wurden zuerst von Lominsky (26) angestellt. Er experimentierte mit Milzbrand- und Typhusbakterien, mit *Staphylococcus pyogenes aureus* und *Bact. prodigiosum* und konnte feststellen, daß Bakterien durch die intakte Epidermis nicht eindringen, Wunden aber das Eindringen ermöglichen und die Bakterien bei künstlicher Infektion sich im Gewebe der Pflanze vermehren und Kolonien bilden. Nach 42 Tagen wurden sie noch als lebend erkannt. Auch sollten die Bakterien auf benachbarte Gewebepartien übergegangen sein und zur Ausbreitung vornehmlich die Interzellularen benutzt haben. Die injizierten Pflanzenteile sollen krankhafte Veränderungen gezeigt haben: Absterben der Blätter, Verfärbungen, Rotfleckigkeit nach Infizieren mit *Bact. prodigiosum*. Führten diese Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Bakterien im Gewebe keine Schädigung erlitten und sich weiterhin vermehrten, ja die Pflanze unter ihrer Tätigkeit zu leiden schien, so mußten diese Ansichten durch spätere Nachprüfung eine wesentliche Korrektion erfahren.

Besonders die Versuche von Russell (33) mit tierpathogenen Bakterien ließen erkennen, daß letztere in der Pflanze nicht ihre Lebensbedingungen fanden und nach kurzer Zeit abstarben. Die saprophytischen Bakterien, die Russell den Pflanzen injizierte, hielten sich in einigen Fällen bis zu 40 Tagen am Leben. Russell will beobachtet haben, daß namentlich bei Injektion von Saprophyten eine Ausbreitung im Gewebe erfolge, und er schließt hieran eine eingehende Erörterung über die Art und Weise der Verbreitung

(33, S. 231), und zwar sollen hierfür weder Diffusion durch das Gewebe noch der Transpirationsstrom, noch der Weg durch die Interzellularen in Betracht kommen, sondern den Bakterien wird die Fähigkeit zugeschrieben, von Zelle zu Zelle vorzudringen. — Zinsser (44) prüfte die Frage von neuem und konnte im Gegensatz zu Russells unwahrscheinlicher Vermutung feststellen, daß Bakterien bei künstlicher Infektion sich keinesfalls intrazellulär verbreiteten (44, S. 444), sondern sich nur in den Interzellularen aufhielten. Im übrigen ergeben die Versuche Zinssers, daß die von ihm verwendeten Bakterien — unter ihnen die Knöllchenbakterien der Leguminosen — nach einiger Zeit im Gewebe absterben; so erwies sich z. B. *Sarcina lutea*, in Bohnenstengel injiziert, nach 25 Tagen als nicht mehr lebensfähig; ähnliche Daten gelten für einige Spirillen, für *Clostridium Pasteurianum* u. a. Unter den resistenteren zeichnet sich *Bact. prodigiosum* aus mit einer Lebensdauer von 96 Tagen in Bohnenstengeln. — Daß eine Verbreitung von Bakterien von Wunden aus nicht erfolgt, wird von Kornauth (21) für einige Saprophyten und tierpathogene Bakterien gezeigt. Letztere starben im Gewebe sehr bald ab; nur die Sporenbildner unter ihnen waren sehr resistent. — Hartleb (19) injizierte Stengel verschiedener Pflanzen mit den bei der Maul- und Klauenseuche vorkommenden Bakterien. Vorher auf saurem Nährboden kultiviert, vermochten sich diese Bakterien im Pflanzengewebe sehr lange lebend zu erhalten und weiter zu entwickeln. In infizierten und dann getrockneten Stengeln lebten sie im Dauerzustand über 6 Monate. Selbsttätiges Vordringen in das Gewebe wurde auch hier nicht beobachtet.

In einigen Fällen ist es gelungen, unter besonderen Kulturbedingungen, die sich sowohl auf die Bakterien wie auf die Versuchspflanzen erstrecken, bei saprophytisch lebenden Bakterien phytopathogene Eigenschaften zur Entwicklung zu bringen (Literatur hierüber bei Kruse, 22, S. 1152). Die hierbei gewonnenen Beobachtungen lassen die Grenze zwischen Saprophyten und Parasiten nicht mehr scharf erscheinen; doch ist wohl noch zu entscheiden, ob diese Erscheinungen auch für natürliche Verhältnisse in Frage kommen. —

Im folgenden berichte ich zuerst über einige weitere Injektionsversuche mit Bakterien, die für gewöhnlich einer saprophytischen Lebensweise angepaßt sind. Als Versuchspflanzen werden neben krautigen Gewächsen auch Holzpflanzen berücksichtigt. —

A. Lebensdauer von Bakterien in krautigen Pflanzen.

Bei der Auswahl von Bakterien für die Injektionsversuche war die Absicht maßgebend, nur vegetative Formen dem Einfluß auszusetzen, der bei einem Aufenthalt im pflanzlichen Gewebe in Betracht kommt. Da die Endosporen der Bakterien gegen äußere Einflüsse sehr resistent zu sein pflegen, so war bei Verwendung von Sporenbildnern von vornherein zu erwarten, daß die durch das lebende Gewebe gegebenen besonderen Lebensbedingungen sich nicht weiter auffallend geltend machen würden. Ferner erschien es hinsichtlich der Art und Weise der endlichen Untersuchung des Gewebes auf das Vorhandensein der injizierten Mikroorganismen von Vorteil, sich solcher Bakterien zu bedienen, die schon äußerlich in der Kultur leicht erkennbar sind. Ich wählte daher die folgenden farbstoffbildenden Bakterien: *Bact. prodigiosum*, *Bact. fluorescens*, *Bact. pyocyaneum*, *Bact. brunecum*, *Sarcina lutea*. Die vier Erstgenannten sind im Handbuch von Lehmann und Neumann (5. Aufl., 1912) unter der Gattung „Bacterium“ geführt: sie bilden keine Sporen. Auch für *Sarcina lutea* ist Sporenbildung nicht bekannt. Die in verdünnter Bouillon aufgeschwemmten Bakterien wurden mittels einer als „Liebergs Patent“ bezeichneten Injektionsspritze den Pflanzen injiziert. Diese Spritze besteht außer der Stahlhohlnadel nur aus Glasteilen und kann ohne Nachteil im Dampfsterilisator sterilisiert werden. Nach sorgfältiger Reinigung der Injektionsstellen wurde die Injektion so ausgeführt, daß die Nadel stets von schräg unten nach oben in das Gewebe eingestochen und unter mäßigem Druck je 0,05—0,1 ccm Bakterienaufschwemmung eingespritzt wurde. (Der Hohlraum der Spritze faßte 1 ccm und war mit $^1/_{20}$ ccm-Graduierung versehen.) Die Pflanzen erhielten nach sorgfältiger Entfernung etwa aus den Einstichstellen hervortretender Flüssigkeitsspuren einen Watteverband und fanden Aufstellung im Gewächshaus bei mittlerer Temperatur. Die Erde in den Töpfen wurde mäßig begossen.

Die Untersuchung der injizierten Gewebepartien fand in der Weise statt, daß ich nach äußerlichem Desinfizieren der Injektions-

stelle mit Alkohol und Äther und flüchtigem Abflammen des betr. Pflanzenteils dem Gewebe kleine Partikel, die meist den Einstichkanal in sich faßten, entnahm und in geeignetes Nährsubstrat verteilte. Das Isolieren der Gewebepartikel wurde im Hansenschen Kasten mit sterilen Instrumenten vorgenommen. Die Kulturen stellte ich in das Wärmezimmer (25° C). Nach 3—5 Tagen — bei *Sarcina* und *B. bruneum* war längere Zeit nötig — konnte aus der Entwicklung der betreffenden Bakterien bezw. aus dem Sterilbleiben der Kulturen geschlossen werden, ob sich die Bakterien im Gewebe lebend erhalten hatten oder ob sie abgestorben waren. Dabei war durch Verwendung der Chromobakterien das Erkennen in der Kultur sehr erleichtert, so daß die makroskopische Feststellung ausreichte. Bei Entstehen von zweifelhaften Mischkulturen war natürlich der Versuch von der Beurteilung ausgeschlossen.

Bezüglich der Versuchspflanzen sei noch bemerkt, daß bei den üblichen botanischen Versuchsobjekten *Phaseolus multiflorus, Lupinus albus, Vicia Faba, Ricinus communis* die Injektion an jungen Stengeln (meist Epi- bezw. Hypokotylen) vorgenommen wurde; bei *Pelargonium peltatum* und *Bryophyllum* handelte es sich um ausgewachsene Stengel, und bei *Echeveria scaphiphylla* wurden die sukkulenten Blätter injiziert. Die Crassulaceen *Bryophyllum* und *Echeveria* wurden deshalb mit verwendet, weil wegen der in ihrem Zellsaft vorhandenen Apfelsäure vielleicht eine besonders auffallende Wirkung auf die Bakterien zu erwarten stand; diese Erwartung erfüllte sich jedoch nicht in irgend erkennbarer Weise, wie aus den in folgenden Tabellen verzeichneten Resultaten zu ersehen ist. — In der letzten Vertikalreihe der Tabellen bedeutet: + die Entwicklung der injizierten Bakterien in den mit Gewebepartikeln beschickten Kulturen, — das Sterilbleiben der Kulturen Die beigefügten Daten bezeichnen nach Tagen die zwischen Injektion und Untersuchung verflossene Zeit. Da ein unterschiedliches Verhalten der Pflanzen nicht merklich zutage trat, so erfolgte die Anordnung der Resultate nach steigenden Beobachtungszeiten.

1) *Bacterium prodigiosum.*

Phaseolus . . .	2 Stengel	23. 6. 14	bis	10. 7. 14	17 Tage	+
Pelargonium . .	2 „	17. 10. 14	„	9. 1. 15	52 „	+
Echeveria . . .	4 Blätter	16. 3. 15	„	12. 5. 15	57 „	+
Lupinus	2 Stengel	18. 1. 15	„	7. 5. 15	109 „	+
Bryophyllum . .	„	17. 10. 14	„	9. 2. 15	112 „	+
Pelargonium . .	2 „	17. 11. 14	„	16. 3. 15	120 „	+

2) *Bacterium fluorescens.*

Phaseolus . . .	2 Stengel	9. 12. 14	bis 4. 2. 15	56 Tage	+
Vicia Faba . . .	2 „	9. 12. 14	„ 4. 2. 15	56 „	+
Echeveria . . .	2 Blätter	7. 12. 14	„ 8. 3. 15	91 „	+
Echeveria . . .	4 „	7. 12. 14	„ 12. 5. 15	152 „	+

3) *Bacterium pyocyaneum.*

Bryophyllum . .	Stengel	23. 11. 14	bis 11. 1. 15	49 Tage	+
Pelargonium . .	2 Stengel	17. 11. 14	„ 10. 1. 15	54 „	+
Bryophyllum . .	Blattstiel	23. 11. 14	„ 3. 2. 15	72 „	+
Lupinus	2 Stengel	12. 1. 15	„ 28. 5. 15	136 „	+
Bryophyllum . .	Stengel	23. 11. 14	„ 28. 5. 15	186 „	+

4) *Sarcina lutea.*

Phaseolus . . .	2 Stengel	11. 2. 15	bis 8. 3. 15	25 Tage	+
Echeveria . . .	2 Blätter	5. 12. 14	„ 11. 1. 15	37 „	—
Echeveria . . .	2 „	5. 12. 14	„ 21. 1. 15	47 „	+
Pelargonium . .	Stengel	20. 11. 14	„ 9. 1. 15	50 „	+
Pelargonium . .	2 Stengel	20. 11. 14	„ 3. 2. 15	75 „	+
Phaseolus . . .	3 „	9. 2. 15	„ 10. 5. 15	89 „	—
Pelargonium . .	2 „	20. 11. 14	„ 19. 3. 15	119 „	—

5) *Bacterium bruneum.*

Phaseolus . . .	Stengel	17. 2. 15	bis 25. 2. 15	8 Tage	+
Phaseolus . . .	2 Stengel	17. 2. 15	„ 3. 3. 15	14 „	+
Vicia Faba . . .	2 „	7. 1. 15	„ 16. 2. 15	40 „	+
Ricinus	3 Hypokotyle	15. 3. 15	„ 7. 5. 15	53 „	—
Pelargonium . .	Stengel	7. 1. 15	„ 16. 3. 15	68 „	—
Echeveria . . .	4 Blätter	16. 1. 15	„ 12. 5. 15	116 „	—

Die Versuche haben zu dem Ergebnis geführt, daß die Bakterien sich ziemlich resistent zeigten. So konnten *B. prodigiosum, fluorescens* und *pyocyaneum* aus allen Pflanzen in lebendem und entwicklungsfähigem Zustand isoliert werden, nur bei *Sarcina* und *B. bruneum* waren einige Ausnahmen zu verzeichnen. In einigen Fällen waren die Bakterien auffallend lange lebend geblieben; die Werte übersteigen hier die von Russell (33) und Zinsser (44) festgestellten erheblich. Irgendwelche Beziehungen zwischen den erreichten Resultaten einerseits und den Bakterienarten und verschiedenen Pflanzen andererseits bestehen anscheinend nicht, sondern

es tritt ein ziemlich einseitiges Verhalten der Bakterien sowohl wie der Pflanzen hervor. — Eine weitere kritische Besprechung der Ergebnisse wird nach Erledigung der weiteren Versuche erfolgen.

B. Lebensdauer von Bakterien in lebendem Holz.

1. Zunächst nahm ich noch einige Injektionen von *Bact. prodigiosum* in junge, noch nicht völlig verholzte Stämmchen einiger Roßkastanienpflanzen vor, die eben ihr erstes Blattpaar entfaltet hatten. Die Menge der eingeführten frischen Aufschwemmung von *Bact. prodigiosum* betrug auch hier in keinem Falle mehr als 0,05 ccm. Die Vorbereitung der Injektionsstelle sowie die endliche Untersuchung erfolgten in derselben Weise wie bei den übrigen Injektionsversuchen. Die in Töpfen aufgezogenen Pflanzen verblieben nach der Injektion im Gewächshaus; die Injektionsstelle war durch Watteverband geschützt.

Die folgende Tabelle bietet das Ergebnis:

Injektion	Untersuchung	Tage	*B. prodigiosum*
23. Juni 1914	13. Juli 1914	20	+
10. Juli 1914	23. Oktober 1914	105	+
10. Juli 1914	26. November 1914	139	+
9. Juli 1914	28. Mai 1915	323	+

Die Bakterien hatten sich offenbar in allen Fällen im Holz lebend erhalten. Die auffallend lange Lebensdauer in einem der sich entwickelnden Stämmchen deutet auf große Widerstandsfähigkeit des *Bact. prodigiosum* hin. Daß im Holz die Bakterien sich nicht anders zu verhalten scheinen als in krautigem Gewebe, zeigen noch die folgenden Versuche.

2. Die in Abschnitt II gewonnene Erfahrung, daß Bakterien in abgeschnittenen Zweigen mit dem aufgenommenen Wasser aufsteigen, diente jetzt dazu, sie auf diese Weise in den Holzkörper solcher Zweige einzuführen, die sich als Stecklinge weiterhin am Leben erhalten ließen. Nach einiger Zeit wurde dann versucht, die Bakterien noch lebend aus dem Holz zu isolieren. — Ich schnitt 25 ein- und zweijährige, 50—80 cm lange Zweige von *Populus nigra* unter Wasser ab und stellte sie mit frischen Schnitt-

flächen in Gläser, die eine Aufschwemmung von *Bact. prodigiosum* in folgender Lösung enthielten:

Destill. Wasser . . .	100 g	
KH_2PO_4	0,010 g	0,015 g
$MgSO_4$	0,003 „	
NaCl	0,001 „	
$CaCl_2$	0,001 „	
Zucker	0,5 „	

Die Verwendung peptonhaltiger Bouillon zur Aufschwemmung wurde vermieden, um einer etwaigen Schädigung der lebenden Elemente des Holzkörpers vorzubeugen. — Die Zweige transpirierten lebhaft und nahmen je 20 ccm Aufschwemmung auf. Darauf wurden sie entblättert und nach kräftigem Abspülen der Schnittflächen in Töpfe mit gesiebter, mäßig feucht gehaltener Erde gesteckt. Um Gewißheit zu haben, daß Bakterien mit aufgestiegen waren, untersuchte ich sogleich drei der Zweige auf die übliche Weise; es ergab sich, daß die Bakterien bis zu 16 und 18 cm Entfernung von der Schnittfläche vorhanden waren; in weiterer Entfernung (22 und 24 cm) war das Holz steril. Es gelang, die Mehrzahl der Stecklinge längere Zeit am Leben zu erhalten. Der Versuch hatte am 11. Juni 1914 begonnen; von Zeit zu Zeit untersuchte ich 2—3 Zweige daraufhin, ob *Bact. prodigiosum* sich noch aus ihnen isolieren ließ. So fanden Untersuchungen am 25. VI., am 4. VII., am 17. VII. und am 1. VIII. 1914 statt, die sämtlich ein positives Ergebnis lieferten. Leider standen von da ab keine lebenden Stecklinge mehr zur Verfügung. — Die Bakterien hatten sich demnach in der Zeit von 50 Tagen im Holz lebend erhalten.

3. Auf dieselbe Weise wurde ein zweiter Versuch angestellt, nur trat jetzt, um die Eigenschaften der Aufschwemmung etwas zu variieren, steriles Leitungswasser an Stelle der Nährlösung; es wurden 2,5 ccm eben sich trübender, frischer Bouillonkultur von *Bact. prodigiosum* mit 500 ccm sterilisiertem Leitungswasser verdünnt. 20 unter Wasser abgeschnittene Zweige von *Populus nigra* nahmen die Flüssigkeit (je 20 ccm) rasch auf. Durch darauffolgende Untersuchung überzeugte ich mich, daß Bakterien bis zu mindestens 15 cm Entfernung von der Schnittfläche mit aufgestiegen waren. Die Zweige wurden wie im vorhergehenden Versuch als Stecklinge weiter am Leben erhalten; sie trieben bald frische Blätter und wurzelten ein. — Wieder untersuchte ich von Zeit zu Zeit.

Beginn des Versuchs am 26. Juni 1914; untersucht wurde das Holz am 10. VII., am 16. VII., am 25. VII. und am 31. VII. mit positivem Ergebnis. Der Versuch wurde hier abgebrochen, da die übrigen Stecklinge eingegangen waren. — Nach Verlauf von 35 Tagen waren die Bakterien noch als lebend in den Stecklingen nachgewiesen worden. —

4. Bei einem dritten Versuch preßte ich eine Aufschwemmung von *Bact. pyocyaneum* durch Zweigstückè von *Salix alba* in Länge von 8—20 cm. — Nebenbei erwähnt, war das Filtrat — in Übereinstimmung mit früheren Erfahrungen — nur nach Durchlaufen der kürzeren Zweigstücke bakterienhaltig. — Die Untersuchung eines Versuchszweiges ergab, daß *Bact. pyocyaneum* bis zu 10 cm Höhe im Holz vorhanden war. Die so mit Bakterien injizierten Zweigstücke wurden darauf unter einer feuchten Glocke aufgestellt und brachten ihre Knospen bald zum Austreiben. (Der Versuch fand im Frühjahr statt.) Nach Verlauf von 48 Tagen, während welcher Zeit die Zweige lebend geblieben waren, entnahm ich dem Holzkörper nach sorgfältiger äußerlicher Desinfizierung einzelne Späne aus 5—10 cm Entfernung von der Schnittfläche und überführte sie in Nährbouillon. Die Kulturen mit Spänen aus 4 Zweigen lieferten typische Entwicklung des *B. pyocyaneum*, die übrigen Kulturen waren verunreinigt. Wir können schließen, daß *B. pyocyaneum* in lebendem Weidenholz nach 48 Tagen noch nicht abgestorben war. — Selbstverständlich wurden bei allen diesen Versuchen alle aseptischen Vorsichtsmaßregeln streng eingehalten. —

C. Verhalten von Bakterien in Berührung mit isoliertem, lebendem Pflanzengewebe und die Beeinflussung dieses Verhaltens durch Alkali- und Säurebehandlung des Gewebes.

Hatten wir bisher beobachtet, wie sich bezüglich der Lebensdauer die Bakterien in solchem Gewebe verhielten, das in Konnex mit dem Lebensgetriebe der Pflanze stand, so lag es nun nahe, Bakterien auch mit isoliertem, lebendem Gewebe zusammenzubringen, um zu erfahren, ob eine gegenseitige Einwirkung stattfindet; ob vielleicht das Gewebe Eigenschaften aufweist, die die Entwicklung von Bakterien zurückdrängen, oder ob andererseits die Bakterien zur Ausnutzung der im Gewebe gebotenen Nährstoffe zu schreiten vermögen.

Die Bakterien wurden auf verschiedene Weise dem Einfluß lebenden Gewebes ausgesetzt. Es wurden Späne aus dem Splintholz der Rotbuche steril isoliert und in Reagenzgläschen verteilt, die wenig sterilisiertes Leitungswasser enthielten (auf 3 ccm Wasser je 4—5 Späne). Darauf erfolgte Beimpfen mit sehr wenig *Prodigiosus*-Bouillon; ich tauchte nur das äußerste Ende der Nadel ein. Den Kulturen, die bei 25° C aufbewahrt wurden, entnahm ich nach 3 Tagen je einen Tropfen Flüssigkeit, vermischte diesen mit Nährgelatine und goß Platten. Alle Platten lieferten zahlreiche Kolonien des *Bact. prodigiosum*, dessen Entwicklung durch die Gegenwart lebenden Holzes — man könnte an beeinflussende Enzymwirkung denken — anscheinend nicht gehemmt worden war. — In gleicher Weise brachte ich Späne aus frischem Holz von *Salix caprea* in Gläschen mit stark verdünnter Nährbouillon. Das Beimpfen der Kulturen mit Spuren einer frischen *Prodigiosus*-Bouillon hatte den Erfolg, daß augenscheinlich die Vermehrung der Bakterien in den mit Spänen beschickten Gläsern lebhafter vor sich ging als in Kontrollgläsern, die nur verdünnte Nährbouillon enthielten; ich schloß dies aus der Stärke der Trübung und der Quantität des rötlichen Bodensatzes. — Das gleiche Resultat konnte für die Versuche verzeichnet werden, in denen Späne aus dem Splint von *Quercus pedunculata* mit den Bakterien in Berührung standen. Auch hier war die Entwicklung der Bakterien durch die Gegenwart lebenden Holzes nicht gehemmt. Über einige weitere Versuche, bei denen eine einprozentige Rohrzuckerlösung die Stelle der verdünnten Nährbouillon vertrat, kann das gleiche ausgesagt werden. — Ich bin mir bewußt, daß die hier geübte Methode nicht ausreicht, einen wirklichen Einblick in die vielleicht obwaltenden Einwirkungen zu gewinnen. Doch kann immerhin erkannt werden, daß in diesen Fällen das Gewebe nicht über wirksame Mittel verfügte, die Entwicklung von Bakterien zu verzögern.

Im allgemeinen wird das pflanzliche Gewebe, sobald es abgestorben ist, zum Nährboden für Bakterien. Wir bedienen uns des sterilisierten, durch Hitze abgetöteten Gewebes von Pflanzenteilen (Kartoffeln, Rüben usw.), um Bakterien zu kultivieren. In diesem Falle sind die Nährstoffe des Gewebes den Bakterien ohne weiteres zugänglich. Ich suchte nun das Verhalten von Bakterien zu beobachten, wenn ihnen isoliertes, lebendes Pflanzengewebe als Substrat geboten ist. Inwieweit gelangen sie hier zur Entwicklung? Vermögen sie sich nicht anzusiedeln, wo sind die Ursachen dafür

zu suchen? — Durch die folgenden Versuche beobachtete ich zunächst, ob *Bact. prodigiosum* auf isolierten, lebenden Gewebestücken aus der Kartoffel, aus dem Apfel und aus der weißen Rübe *(Brassica rapa f. esculenta)* zu äußerlich erkennbarer Entwicklung gelangte. Ich isolierte die Gewebestücke unter aseptischen Außenbedingungen und legte sie in sterilisierte, mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegte Petrischalen. Darauf erfolgte Beimpfen mit je 1—2 Ösen eben sich trübender, frischer Bouillonkultur von *Bact. prodigiosum.* Die Kulturen wurden bei 25° C gehalten. Es zeigte sich, daß auf keinem der Substrate Bakterienentwicklung erfolgte, selbst nicht nach längerer Zeit — nach 12—20 Tagen —, als das Gewebe sich braun verfärbt hatte und offenbar abgestorben war; doch hatten sich die Bakterien am Leben erhalten, wie ich mich durch Abimpfen überzeugte. Die Gewebestücke unterschieden sich von unbeimpften Stücken nur durch einige blasse, die Ausdehnung der Impfflüssigkeit anzeigende Flecke. Man sollte vermuten, daß den Bakterien allein durch die beim Zerschneiden der Objekte entstandenen Zelltrümmer und damit freigelegten Nährstoffe genügend Entwicklungsbedingungen geboten seien, zumal andere wichtige Forderungen, wie Temperatur und Feuchtigkeit, erfüllt waren.

In einigen Fällen suchte ich durch oberflächliches Schaben der Gewebestücke ein nährstoffreicheres Substrat zu bieten, aber selbst nach längerer Zeit und wiederholtem Beimpfen ließ sich nur bei einem von vier Versuchen — mit der Rübe als Objekt — ein schwach roter Anflug auf dem Gewebestück erkennen. — Offenbar sind also stärkere Einwirkungen nötig, um das Gewebe zum Nährboden geeignet zu machen. Aber auch im völlig abgetöteten Zustande (Sterilisieren durch Hitze) waren nicht alle drei genannten Gewebearten zur Kultur speziell des *Bact. prodigiosum* geeignet; wohl zeigten Scheiben der Kartoffel und der weißen Rübe, im Dampfsterilisator sterilisiert, einige Tage nach Beimpfen den bekannten rotglänzenden Belag, sterilisierte Apfelscheiben dagegen blieben unverändert braun, es war keine Spur von Kolonienbildung zu erkennen, obwohl ich durch Abimpfen feststellen konnte, daß die Bakterien noch lebend (nach 10 Tagen) auf dem Substrat vorhanden waren. Es könnte nun hier die im Zellsaft des Gewebes reichlich vorhandene Säure als das entwicklungshemmende Agens angesehen werden, und da auch die frischen Schnitte der Kartoffel und der Rübe schwach sauer reagierten, so vermutete ich, daß der saure Zellsaft den Mißerfolg des Beimpfens der isolierten Gewebe-

stücke verursacht haben könnte. Ich legte daher steril isolierte, frische Scheiben genannter Objekte 1—2 Stunden in stark verdünnte, alkalische Lösung (0,1 % KOH) und beimpfte sie dann mit je einer Öse *Prodigiosus*-Bouillon. Der Erfolg war, daß die so behandelten Apfelscheiben bald eine kräftige Bakterienentwicklung erkennen ließen, sie waren nach einigen Tagen vollständig mit einem roten, glänzenden Belag überzogen. Von 4 Kartoffelscheiben zeigten 3 nach 3 Tagen einen schwach roten Belag; auf den Rübenschnitten, die nach der Laugenbehandlung teils in sterilisiertem Wasser abgespült wurden, teils unabgespült gelassen worden waren, machte sich, trotz Verreibens der obersten Gewebeschichten zu einem Brei, keinerlei Bakterienentwicklung bemerkbar. Es muß hierzu erwähnt werden, daß die obersten Zellenlagen der mit Kalilauge behandelten Gewebestücke abgestorben waren; der Zellinhalt war völlig degeneriert und Plasmolyse nicht zu erreichen. — Aus dem wenigstens bei Apfel- und Kartoffelscheiben durch die Laugenbehandlung erzielten Erfolg könnte vielleicht geschlossen werden, daß die Azidität des frischen Gewebes die Bakterienentwicklung verhinderte; daneben wäre freilich auch der Umstand zu berücksichtigen, daß einige Zellenlagen durch die Laugenbehandlung abgestorben waren. Daß nun auf die Azidität nicht das Hauptgewicht gelegt werden darf, zeigen folgende Versuche: die steril isolierten Gewebestücke wurden jetzt vor dem Beimpfen 1—2 Stunden in stark verdünnte Säure (0,06 % Salzsäure) gelegt. Auf den Kartoffel- und Rübenscheiben erfolgte darauf gute bis vorzügliche Entwicklung des *B. prodigiosum*, während die Apfelscheiben unverändert blieben. Auch durch die Säurebehandlung waren die obersten Zellschichten des Gewebes abgestorben. Um einen Überblick zu gewinnen, sei folgende kleine Tabelle eingeschaltet, in der durch + die Entwicklung des *Bact. prodigiosum* angedeutet sei:

	Kartoffel	Rübe	Apfel
Frisch	—	—	—
Sterilisiert	+ +	+ +	—
Alkali	+	—	+ +
Säure	+	+ +	—

Fassen wir die Beobachtungen zusammen, so ergibt sich folgendes: Die Bakterien gelangten auf lebendem Pflanzengewebe nicht

zu äußerlich erkennbarer Entwicklung. Sie vermochten selbst dann das Substrat nicht auszunutzen, als nach längerer Zeit das isolierte Gewebe sich offenbar nicht mehr auf der Höhe seiner Lebenstätigkeit befand. Die Ursache hierfür dürfte nicht hauptsächlich in der Azidität des Gewebes zu suchen sein; bei dem Apfel kann die saure Reaktion in Frage kommen, denn sein Gewebe bietet, durch Hitze abgetötet, keinen geeigneten Nährboden, wohl aber dann, wenn infolge Laugenbehandlung die Säure abgestumpft, zugleich aber auch eine Reihe von Zellen getötet wurden. Bei der Kartoffel und bei der Rübe war sowohl durch Alkali wie durch Säure ein gewisser Erfolg zu erzielen; dies läßt vermuten, daß auf jeden Fall das Gewebe tot sein muß, ehe seine Nährstoffe den Bakterien zugänglich werden. Bei der Rübe hatte nur Abtöten durch Hitze oder Säurebehandlung Erfolg; es erscheinen hier die Verhältnisse am wenigsten geklärt. — Möglicherweise könnten bei diesen Erscheinungen auch bakterienhemmende Stoffe eine Rolle spielen, Stoffe, die Wagner (42) als von vornherein in gesunden Pflanzen vorhanden annimmt. Er beobachtete ihre Wirkung gegenüber solchen Bakterien, die unter Umständen phytopathogene Eigenschaften entwickeln können; es erscheint fraglich, ob sich diese Wirkung auch reinen Saprophyten, wie *Bact. prodigiosum*, gegenüber geltend machen würde.

Bei den oben beschriebenen Versuchen nahm ich einige Male Gelegenheit, zu beobachten, daß Bakterien bei enger Berührung mit lebendem Gewebe sich einige Zeit lebend erhielten, ohne dabei zu äußerlich erkennbarer Vermehrung zu schreiten. Ich stützte diese Beobachtung noch durch folgende Versuche: Gewebestückchen (je 1 ccm) aus dem Blattgewebe von *Echeveria scaphiphylla* wurden unter aseptischen Außenbedingungen isoliert und in sterilisierte, mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegte Petrischalen gebracht. Die Gewebepartikel wurden darauf mit wenig Bakterienbouillon beimpft; zur Verwendung gelangten *B. fluorescens* und *B. bruneum*. Nach 4tägigem Aufenthalt bei 25° C erfolgte Überführung des beimpften Gewebes in Nährbouillon, und es entwickelten sich Kulturen der Kontrollbakterien. — In einem zweiten Versuch beimpfte ich Gewebestückchen der gleichen Art mit *Bact. fluorescens*, *B. pyocyaneum* und *B. bruneum* und ließ jetzt die Kulturen 40 Tage lang bei 25° C stehen. Die Gewebestückchen hatten einige Zeit ihre sattgrüne Farbe behalten, waren aber schließlich braun geworden und abgestorben. Die beimpften wie die nichtbeimpften Stückchen

zeigten nach Verlauf der Beobachtungszeit dasselbe Aussehen; auf ersteren war nichts zu bemerken, was auf Vermehrung der Bakterien hätte schließen lassen; es wäre hier an Schleimbildung oder farbige Kolonien zu denken. Das Überführen der Gewebestückchen in Gläschen mit Nährbouillon hatte die Entwicklung der betr. Bakterien zum Erfolg, die sich sonach während 40 Tagen lebend erhalten hatten.

Offenbar besteht hier eine Parallele zu den Erscheinungen bei den Injektionsversuchen insofern, als in beiden Fällen — bei den zuletzt beschriebenen Versuchen wenigstens für einige Zeit — die Bakterien in enger Berührung mit lebendem Gewebe standen, dabei nicht zu auffallender Entwicklung gelangten, aber auch nicht soweit geschädigt wurden, daß sie ihre Lebensfähigkeit gänzlich einbüßten. —

Allgemeines über die Injektionsversuche.

Den Einzelangaben bei den Injektionsversuchen kann noch hinzugefügt werden, daß die Pflanzen durch die Injektionen nicht geschädigt wurden, abgesehen von lokalisierten Erscheinungen, wie Einsinken des Gewebes an den Injektionsstellen, geringe Verfärbung kleiner Gewebebezirke, die auf den Eingriff als solchen zurückzuführen sein werden. Der Einstichkanal war meist braun verfärbt; krautige Stengel ließen ihn offen, während bei den jungen Kastanienstämmchen Verschluß der Wunde nach außen durch Überwallungsgewebe festgestellt werden konnte.

Da ich mich durch einen Versuch überzeugte, daß durch die Injektion die Bakterien z. B. in einem Lupinenhypokotyl 2—3 cm aufwärts getrieben wurden, erschien es aussichtslos, auf die hier geübte Methode eine Untersuchung des Gewebes auf etwa erfolgte selbsttätige Verbreitung der Bakterien vorzunehmen. Weiter entfernt liegende Gewebebezirke erwiesen sich auch bei der endlichen Untersuchung des Gewebes als steril. Ich begnügte mich daher festzustellen, ob die Bakterien nach gewisser Zeit noch lebensfähig aus dem Gewebe isoliert werden konnten. Als allgemeines Ergebnis war hervorgetreten, daß *B. prodigiosum*, *B. fluorescens* und *B. pyocyaneum* sich beträchtlich lange im Pflanzengewebe lebend erhalten hatten; es konnte hier überhaupt kein Fall verzeichnet werden, in dem sie abgestorben wären. Nur für *Sarcina lutea* und *Bact. bruneum* kann geltend gemacht werden, daß sie weniger widerstandsfähig waren.

Welche Faktoren kommen nun für eine Beeinflussung der Lebensdauer der Bakterien in Frage? Zunächst die, die auch sonst das Leben der Bakterien beherrschen: Temperatur, Feuchtigkeit, Luft- und Lichtzutritt. Der erstgenannte kann als abgesehen von der Pflanze wirkend betrachtet und als günstig bezeichnet werden; die Temperatur des Aufenthaltsortes der injizierten Pflanzen hielt sich innerhalb der Grenzen, in denen Bakterienvegetation stattfinden kann. Für den zweiten Faktor kommt das Maß der Feuchtigkeit im Injektionsbezirk in Frage. Da anzunehmen ist, daß die Injektionswunde, zum mindesten aber der Einstichkanal, allmählich austrocknet, und außerdem den in die Interzellularen getriebenen Bakterien nicht immer viel Feuchtigkeit zur Verfügung stehen dürfte, so wird bei unseren Versuchen die Resistenz der Bakterien gegen Austrocknen zu berücksichtigen sein. Diese ist selbst bei nur vegetativen Formen oft sehr hoch; schon de Bary[1]) stellte für *Bact. prodigiosum* fest, daß es im eingetrockneten Zustande monatelang lebend und wachstumsfähig bleiben kann. — Ich ließ nun *B. prodigiosum*, *B. pyocyaneum*, *B. fluorescens* und *Sarcina lutea* in je einer Öse Nährbouillon an Deckgläschen antrocknen, die unter Watteverschluß bei Zimmertemperatur standen. Nach 4 Wochen waren alle noch lebensfähig; von da ab wurde nur *Sarcina* mit Sicherheit als lebend nachgewiesen. Es sei in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, daß es bei Injektionsversuchen vorkommen kann, daß Bakterien an den Rändern des Injektionskanals antrocknen, auf diese Weise dem etwaigen Einfluß des Gewebes entzogen sind und, falls sie sehr resistent gegen Austrocknen sind, dann die Pflanze selbst für eine Beeinflussung der Lebensdauer der Bakterien nicht mehr in Betracht kommt. Nach dem Isolieren von Gewebepartikeln würden diese Bakterien in der Kulturflüssigkeit zum Leben erwachen.

Für die Hauptmasse der Bakterien kommt aber das Gewebe als Aufenthaltsort in Frage; einen Einfluß könnte hier der allgemeine Zustand der Pflanze ausüben. Falls nun ein aktives Verhalten des Gewebes gegenüber den Bakterien stattfindet, so würde klar sein, daß eine schwächlich entwickelte, schlecht genährte Pflanze die Lebensdauer der injizierten Bakterien zu verlängern, eine kräftig gedeihende sie herabzusetzen imstande wäre. Der für die Pflanzenkrankheiten so außerordentlich wichtige Begriff der Prädisposition kann m. E. für die Beurteilung vorliegender Versuche, in denen

1) Vorlesungen über Bakterien, 1887, S. 44.

alle Erscheinungen auf weitgehend indifferentes Verhalten der Pflanze wie der Bakterien hindeuten, ausgeschaltet bleiben.

Doch ist zu einer Präzisierung dessen, was aus den Injektionsversuchen gefolgert werden kann, eine nähere Betrachtung der Bedingungen nötig, unter denen die Bakterien speziell im Hinblick auf die Eigenschaften des Gewebes stehen.

Durch das Einstechen der Injektionsnadel wird eine Anzahl von Zellen zerstört, wodurch sich schließlich abgestorbener Zellinhalt im Stichkanal ansammelt. Es muß hier eingefügt werden, daß den Bakterien insofern eine gewisse Menge Nährstoff mitgegeben wurde, als ich sie in verdünnter Bouillon aufschwemmte, während Zinsser (44) sterilisiertes Leitungswasser verwandte. Doch dürften schon durch die Zelltrümmer des Stichkanals soviel Nährstoffe geboten sein, um anspruchlosen Saprophyten das Weiterleben, wenn auch ohne Vermehrung, für längere Zeit zu ermöglichen. Durch entsprechende Versuche (S. 66) konnte dargetan werden, daß Bakterien auf isoliertem, zunächst lebendem Pflanzengewebe ihre Lebensfähigkeit lange erhalten. — In den Gefäßbahnen der Holzgewächse stehen den Bakterien außerdem Zucker und anorganische Salze zur Verfügung; vielleicht hätte bei Weiterführung der Versuche (S. 60) eine noch längere Lebensdauer festgestellt werden können. — Durch die Injektion kommen nun die Bakterien mit dem Zellsaft des zerstörten Gewebebezirkes zusammen, dessen Qualität für eine Verschiedenheit der Lebensdauer mit verantwortlich gemacht werden müßte. Im allgemeinen ist gefunden worden, daß saprophytische Bakterien im ausgepreßten Zellsaft verschiedener Pflanzen mit lebhafter Vermehrung einsetzten, auch wenn nur wenig Keime vorhanden waren (vgl. Russell, 33, S. 251). Es ist aus den vorliegenden Versuchen und auch aus den Resultaten zitierter Autoren nicht zu ersehen, ob die Verschiedenheit der Pflanzen und damit des Zellsaftes einen Einfluß auf die Lebensdauer der Bakterien hat. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß bei Verwendung von Pflanzen mit giftigen Zellstoffen, wie Alkaloiden, oder mit aromatischen Stoffen vielleicht wesentlich andere Resultate erzielt worden wären, auch könnte schon der verschiedene Säuregehalt des Zellsaftes als beeinflussend in Frage kommen; besonders bei Holzgewächsen wäre wohl auch an den Gerbstoff zu denken.

Man kann aus den Erscheinungen bei Injektionsversuchen wohl den Eindruck gewinnen, daß die Bakterien mit dem lebenstätigen Gewebe wenig in Berührung kommen. In wirkungsvoller Weise

scheint dies nur bei solchen Bakterien zu geschehen, die zu Angriffen auf die Zellwand befähigt oder durch Toxine auf das Protoplasma einzuwirken imstande sind und so durch Reizwirkung den Protoplasmakörper zu Gegenaktionen veranlassen. Dies dürfte für Saprophyten nicht in Betracht kommen. — Nun geht aus den bereits erwähnten Versuchen Wagners (42) hervor, daß den Pflanzen eine natürliche Immunität den Bakterien gegenüber zukommen kann, und zwar seien die Proteinstoffe die Träger des bakteriziden Prinzips; sie wirkten hemmend auf solche Bakterien, die mit phytopathogenen Eigenschaften gerüstet waren. Bei Injektionsversuchen treffen diese Stoffe mit den Bakterien zusammen; es ist aber nicht erwiesen, ob auch beliebigen Saprophyten gegenüber diese Hemmungsstoffe wirksam sind. Außerdem kommt, was die Quantität dieser Stoffe anbelangt, wohl nur der Inhalt der infolge des Eingriffs zerstörten Zellen in Frage. Wenn die Bakterien im Gewebe nicht zur Vermehrung gelangten, so dürfte die Ursache hierfür nicht in einer Hemmung von seiten des lebenden Gewebes, sondern in erster Linie in dem mangelhaften Nährsubstrat zu suchen sein, und sie werden schließlich, falls es ihnen nicht möglich ist, im Dauerzustand zu verharren, infolge der allgemein für sie ungünstigen Bedingungen absterben. Auch die Versuche mit Holzpflanzen deuten nicht auf eine Beeinflussung seitens des lebenden Gewebes hin, sondern die Bakterien fanden anscheinend auch im Holz die Bedingungen vor, die ein längeres, im Falle der Kastanie (S. 60) sogar ein sehr langdauerndes, wenn auch vielleicht reduziertes Dasein zu führen gestatteten. —

Haben wir durch Injektionsversuche einen Einblick in das Verhalten von Bakterien im lebenden Gewebe von Pflanzen gewonnen, so erscheint es nicht unangebracht, mit diesen Beobachtungen die Ergebnisse von Untersuchungen in Beziehung zu setzen, die das Verhalten von Bakterien und anderen Mikroorganismen im lebenden Protoplasma pflanzlicher Organismen studieren: Celakovsky (6) führte Bakterien in Plasmodien von Myxomyceten ein und beobachtete, daß z. B. *Bac. megatherium* und *Bac. subtilis* sich ziemlich resistent gegen die Einwirkung des Protoplasma wie auch der Vakuolen zeigten; *Bac. subtilis* blieb während 6 Stunden Aufenthalt im Plasma vollkommen lebensfähig. In diesem Zusammenhang sind ferner die Untersuchungen Barbers (2) bemerkenswert. Es gelang ihm, Bakterien, Hefezellen, Pilzsporen direkt in das Zelleninnere verschiedener Grünalgen und Algenpilze in Dosen bis

zu 100 Organismen einzuführen; die Bakterien schienen gute Lebensbedingungen vorzufinden, sie vermehrten sich in allen Fällen reichlich, und bewegliche Formen behielten ihre Beweglichkeit bei. Hemmung durch bakterizide Stoffe war nicht zu bemerken; schließlich gingen die Pflanzenzellen zugrunde. Das Injizieren relativ großer Mengen von Wasser oder Bouillon hatte keinen merklichen Einfluß auf die Zellen. Diese Beobachtung scheint auch hinsichtlich unserer Injektionsversuche beachtenswert; man hätte ja erwarten können, daß allein durch die Injektion der verdünnten Bouillon eine Schädigung herbeigeführt wurde, der zufolge die Widerstandsfähigkeit des Gewebes herabgesetzt und den Bakterien Gelegenheit gegeben worden wäre, festen Fuß zu fassen. Die Beobachtung Barbers läßt diese Vermutung weniger gestützt erscheinen. — Wenn auch nicht ohne weiteres angenommen werden kann, daß das Zellplasma höherer Pflanzen sich gegenüber Bakterien gegebenenfalls genau so verhalten würde wie die von Barber injizierten Zellen von Algen und Pilzen, so sind doch die hier bei direktem Zusammenbringen der Organismen erzielten Ergebnisse geeignet, die Ansicht zu unterstützen, daß bei einem Aufenthalt von Saprophyten im Gewebe höherer Pflanzen eine wirksame Gegenaktion, die etwa auf ein Unschädlichmachen der Bakterien hinzielte, nicht erfolgt. Zudem wurde des näheren darzulegen versucht, daß Bakterien durch die Injektion in das Gewebe nicht in wirkungsvolle Berührung mit dem aktiven Protoplasma kommen. Es geht aus den Injektionsversuchen nur hervor, daß die Bakterien sich in den injizierten Gewebepartien sehr lange lebend erhielten, eine Vermehrung aber infolge mangelhaften Substrates ausgeschlossen war. Die lange Lebensdauer erklärt sich aus der hohen Resistenz der Bakterien gegenüber den allgemein ungünstigen Bedingungen; für eine Verschiedenheit der Lebensdauer dürften die verschiedene Fähigkeit der Bakterien, mit den im injizierten Gewebe gebotenen Stoffen so auszukommen, daß sie lebensfähig bleiben, und die verschiedene Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber der Beschaffenheit dieser Stoffe verantwortlich sein.

Zusammenstellung einiger Ergebnisse.

1. Das normale Gewebe krautiger Pflanzen wurde als frei von Bakterien befunden, ebenso erwies sich Splint- und Kernholz der Holzgewächse als steril. —

2. In pilzkrankem und zersetztem Holz konnten nur Pilze, nicht aber Bakterien nachgewiesen werden. Es ist also anzunehmen, daß mit dem Pilzmycel nicht zugleich auch Bakterien in das Holz vordringen, und daß Bakterien in dem von Pilzen durchwucherten Holz nicht aufkommen können. —

3. Das Eindringen von Bakterien und Pilzsporen in das Holz mit dem von einer Schnittfläche aufgenommenen Wasser erfolgt in den Gefäßen. Demgemäß war bei Zweigen solcher Holzgewächse, die lange Gefäße aufweisen, ein relativ weites Vordringen der Mikroorganismen zu beobachten, während sich das Holz, dessen Leitbahnen nur mit kurzen Gefäßen ausgestattet sind, nur auf entsprechend kurze Strecken hin bakterienhaltig erwies. —

4. Durch die in den Leitbahnen vorhandenen unperforierten Querwände, die für die Länge der Gefäße maßgebend sind, wurde die bakterien- bezw. pilzsporenhaltige Flüssigkeit vollkommen filtriert, während eine gewisse Filtration schon auf dem Wege durch nicht unterbrochene Gefäßstrecken erfolgte. —

5. Bakterien, in lebendes, krautiges Gewebe und in lebendes Holz injiziert, blieben sehr lange Zeit lebensfähig. In einem Falle hatten sie sich über 10 Monate lebend erhalten. —

6. Eine Vermehrung der saprophytischer Lebensweise angepaßten Bakterien im Gewebe wurde nicht beobachtet. —

7. Die lange Lebensdauer ist aus der hohen Widerstandsfähigkeit der Bakterien gegenüber ungünstigen äußeren Bedingungen zu erklären. Es konnte nichts beobachtet werden, was auf eine seitens des lebenden Gewebes gegen die Bakterien gerichtete Aktion hätte schließen lassen.

8. Auch auf isoliertem, lebendem Pflanzengewebe gelangten die Bakterien nicht zu äußerlich erkennbarer Entwicklung, obwohl sie am Leben blieben. Für dieses Verhalten scheint nicht die Azidität des Gewebes in erster Linie verantwortlich zu sein, da auch nach Säurebehandlung, die zugleich Absterben der Zellen zur Folge hatte, das Gewebe in einigen Fällen zum Nährboden geeignet wurde.

9. Es erscheint erforderlich, daß das Gewebe tot sein muß, bevor seine Nährstoffe den Bakterien zugänglich werden. —

Die Untersuchungen zu vorliegender Arbeit wurden im Botanischen Institut der Universität Leipzig auf Anregung und unter Leitung des Herrn Geh. Rates Prof. Dr. W. Pfeffer ausgeführt. Von Herzen danke ich meinem verehrten Lehrer auch an dieser Stelle für die dauernde, wohlwollende Förderung meiner Studien. Auch Herrn Privatdozent Dr. Johannes Buder bin ich für manchen freundlichen Ratschlag herzlich dankbar. —

Literaturverzeichnis.

1. Adler, Die Längenausdehnung der Gefäße. Dissertation. Jena 1892.
2. Barber, M. A., The effect of the protoplasm of Nitella of various chemical substances and microorganisms introduced into the cavity of the living cells. Journal of Infection-Diseases, Vol. 9, 1911, p. 117. — Ref. in Zentralbl f. Bakt., Abt. II, 1912, Bd. 33, S. 350.
3. Brenner, W., Die Schwarzfäule des Kohls. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 1904, Bd. 12, S. 725—734.
4. Buller, A. H. R., Die Wirkung von Bakterien auf tote Zellen. Dissertation. Leipzig 1899.
5. Burri, Bakterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 10, 1903, S. 759.
6. Celakovsky jun, Über die Aufnahme lebender und toter verdaulicher Stoffe in die Plasmodien der Myxomyceten. Flora, Erg.-Bd. zu Jahrg. 1892, S. 182—244.
7. Chamberland, Ch. E., Recherches sur l'origine et sur le dévéloppement des organismes microscopiques. Annales de l'École norm. sup. Paris 1879.
8. Ciocalteu, L'épandage agricole et les microbes. Compt. rend. de la Société de Biologie, Paris 1913, T. 74, p. 1411. — Ref. in Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 1913, Bd. 39, S. 156.
9. Clauditz, Typhus und Pflanzen. Hygienische Rundschau, 1904, Nr. 18, S. 865 bis 871.
10. Düggeli, M., Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflanzen. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 1905, Bd. 12, S. 602 u. 695 und ebenda, 1906, Bd. 13, S. 56 u. 198.
11. Ellrodt, Über das Eindringen von Bakterien in Pflanzen. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 1902, Bd. 9, S. 639.
12. Fernbach, M. A., De l'absence des microbes dans les tissus végétaux. Annales de l'Inst. Pasteur, 1888, p. 567—570.
13. Fischer, Alfred, Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl., 1903.
14. Fritzsche, A., Untersuchungen über das Absterben der Elemente des Holzkörpers. Dissertation. Leipzig 1910.
15. Galippe, V., Note sur la présence de microorganismes dans les tissus végétaux. Compt. rend. hebd. de la Soc. de Biologie, Paris 1887, p. 410 u. 557.
16. Haberlandt, Physiologische Pflanzenanatomie, 3. Aufl., 1904.
17. Hartig, R., Über die Wasserleitung im Spätholz der Bäume. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1888, S. 222.

18. Hartig, R., Lehrbuch der Baumkrankheiten, Berlin, 2. Aufl., 1889.
19. Hartleb, Über die Infektionsfähigkeit lebender Pflanzen mit den bei der Maul- und Klauenseuche vorkommenden Bakterien. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 1898, Bd. 4, S. 26—30.
20. Kochs, W., Gibt es ein Zellenleben ohne Mikroorganismen? Biolog. Zentralbl., Bd. 14, Nr. 14, 1894, S. 481—491.
21. Kornauth, K., Über das Verhalten pathogener Bakterien in lebendem Pflanzengewebe. Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. 19, 1896, S. 801—805.
22. Kruse, Mikrobiologie. 1910.
23. Lafar, Technische Mykologie, Bd. III, 1907.
24. Laurent, Expériences sur l'absence de bactéries dans les vaisseaux des plantes. Bull. de l'Acad. royale des sciences etc. de Belgique, 1890, Bd. 19, p. 468.
25. — —, Sur l'existence de Microbes dans les tissus des plantes supérieures. Bull. de la Soc. roy. de Botan. de Belgique, Bd. 28, p. 233, 1890.
26. Lominsky, Über den Parasitismus einiger pathogener Bakterien auf lebenden Pflanzen. Ref. in Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, 1890, Bd. 8, S. 325—329.
27. Miyoshi, M., Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden. Jahrb. f. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 269.
28. Nägeli, Ernährungsmechanismus der Pilze. Botan. Mitteilungen, Bd. III, 1881, S. 409.
29. Nordhausen, Beiträge zur Biologie parasitärer Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 33, 1899, S. 1—46.
30. Pasteur, Études sur la bière, Paris 1876, p. 55.
31. Peklo, Die pflanzlichen Bakteriosen. Die Naturw. I, 1913, S. 480.
32. Potter, M. C., Bakterien und ihre Beziehungen zur Pflanzenpathologie. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 1910, Bd. 28, S. 624—640.
33. Russell, H. L., Bacteria in their relation to vegetable tissue. Johns Hopkins Hospital Reports, 1894, Vol. III, p. 224—263.
34. Smith, E. F., Bacteria in relation to plant diseases, Vol. II, Publicat. of Carnegie-Inst., 1911.
35. Störmer, Karl, Obstbaumsterben und Kartoffelblattrollkrankheit. Jahresber. d. Verein. f. angew. Bot., Bd. VII, 1910, S. 119—170.
36. Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. II, 3. Aufl., 1908.
37. Strasburger, Jost usw., Lehrbuch der Botanik, 2. Aufl., 1910.
38. Strasburger, Leitungsbahnen. Histol. Beiträge, Bd. III, 1891.
39. — —, Über das Saftsteigen. Histol. Beiträge, Bd. V, 1893.
40. Di Vestea, De l'absence des microbes dans les tissus végétaux. Annales de l'Inst. Pasteur, 1888, p. 670.
41. Vouk, V., Die Lebensgemeinschaften der Bakterien mit einigen höheren und niederen Pflanzen. Die Naturw. I, 1913, S. 81—86.
42. Wagner, R. J., Über bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 1915, Bd. 42, S. 613.
43. Wehmer, Holzansteckungsversuche mit *Coniophora, Trametes* und *Polyporus*. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1914, Bd. 32, S. 568.
44. Zinsser, Über das Verhalten von Bakterien, insbesondere von Knöllchenbakterien, im lebenden pflanzlichen Gewebe. Jahrb. f. wiss. Bot., 1897, Bd. 30, S. 423—452.

Lebenslauf.

Am 27. Dezember 1890 bin ich, Ernst Erich Berthold, evang.-luth. Konfession, Sohn des Zollsekretärs a. D. Ernst Berthold, zu Bodenbach i. Böhmen geboren. Den elementaren Schulunterricht erhielt ich auf den Bürgerschulen zu Schandau (Ostern 1897 bis Ostern 1901), zu Pirna (bis Michaelis 1901) und in der Schule zu Gröba b. Riesa (bis Ostern 1902). Darauf besuchte ich das Realprogymnasium zu Riesa (von Ostern 1902 bis Ostern 1908) und ging von da auf das Realgymnasium zu Meißen über, wo ich Ostern 1911 das Maturitätsexamen ablegte. Ich bezog hierauf die Universität Leipzig, um Naturwissenschaften, besonders Botanik, Zoologie und Chemie, zu studieren.

Vorlesungen und Praktika besuchte ich in Leipzig bei den Herren Professoren und Dozenten:

Barth, Buder, Chun, Felix, Gregory, Hantzsch, Held, Jungmann, Koßmat, Meisenheimer, Miehe, Pfeffer, Rinne, Simroth, Spalteholz, Spranger, Volkelt, Wagner, Wiener, Woltereck, Wundt.